

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***HELICOBACTER PYLORI* ÜST GASTROİNTESTİNAL
PATOLOJİSİ OLAN HASTALARDAKİ IL-6, IL-8, IL-10,
IL-17A VE IL-19 GEN EKSPRESYONLARI VE
MUTASYONLARININ KLİNİK KORELASYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

Elmira HAMIDI

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fatih KÖKSAL**

ADANA-2022

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***HELICOBACTER PYLORI* ÜST GASTROİNTESTİNAL
PATOLOJİSİ OLAN HASTALARDAKİ IL-6, IL-8, IL-10,
IL-17A VE IL-19 GEN EKSPRESYONLARI VE
MUTASYONLARININ KLİNİK KORELASYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

Elmira HAMIDI

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fatih KÖKSAL**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TYL-2021-14313
numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2022

KABUL ve ONAY



ETİK BEYANI



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve desteği ile hep yanımda olan, hem bir akdamesiyen ve hem bir insan olarak kendisini tanıma ve çalışma fırsatı bulduğum ve engin tecrübelerinden yararlanabildiğim için kendimi çok şanslı hissettiğim tez danışman hocam Prof. Dr. Fatih Köksal, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü'nde bulunan değerli öğretim üyelerine, bu süreçte tanıdığım tüm bölüm arkadaşlarıma, tüm Anabilim dalı çalışanlarına sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Seyhan Devlet Hastanesi Gastroenteroloji kliniği Doç. Dr. Bahri Abaylı ve ekibine örnek toplamada yardımcı oldukları için teşekkür ederim.

Son olarakta uzakta olsalarda ilgi ve desteklerini esirgemeyen, sevgili anne ve babama ve ablalarım ve abime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Elmira HAMIDI

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	iii
ETİK BEYANI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Prevalans.....	4
2.3. Bulaş.....	7
2.4. Sınıflandırma.....	7
2.5. Morfolojik Özellikleri.....	10
2.5.1. Görünüm ve Boyanma.....	10
2.6. Yapısal Özellikleri.....	11
2.6.1. Hücre Duvarı ve Antijenik Özellikleri.....	11
2.6.1.1. Peptidoglikan.....	12
2.6.1.2. Dış Membran.....	12
2.6.1.2.1. Lipopolisakkaritler.....	13
2.6.1.2.1.1. Lipid A.....	13
2.6.1.2.1.2. O Zinciri.....	13
2.6.1.2.2. Dış Membran Vezikülleri (OMV).....	14
2.6.1.2.2.1. Dış Membran Proteinleri (OMP).....	14
2.6.1.2.2.2. Dış Membran Porinleri.....	15
2.6.2. Flagella.....	16
2.7. Patogenez.....	16
2.7.1. Bakteriye Ait Virulans Faktörleri.....	17

2.7.1.1. Fosfolipazlar	17
2.7.1.2. Lipopolisakkarit.....	18
2.7.1.3. Üreaz Enzimi	20
2.7.1.4. Flagella ve Motilite.....	21
2.7.1.5. Vakuolizasyon Sitotoksin Geni (Vac A)	22
2.7.1.6. Sitotoksin İle İlişkili Geni (Cag A).....	24
2.7.1.7. Blood Group Antigen-Binding Adhesin (BabA Geni)	26
2.7.1.8. Sialic Acid-Binding Adhesin (Sab A Geni)	28
2.7.1.9. Outer Inflammatory Protein A (OipA Geni)	29
2.7.1.10. Induced by contact with epithelium Gene A (IceA Geni)	30
2.7.1.11. <i>Helicobacter pylori</i> Outer Membrane Protein Q (HopQ).....	31
2.7.1.12. Duodenal Ulcer Promoting Gene A (DupA)	32
2.7.1.13. Adherence-Associated Lipoprotein A and B (AlpA/AlpB).....	33
2.7.1.14. LacdiNAc-Specific Adhesin (LabA)	33
2.7.1.15. <i>Helicobacter pylori</i> Outer Membrane Protein Z (HopZ)	33
2.7.1.16. Katalaz	34
2.7.1.17. Süperoksit Dismutaz.....	35
2.7.1.18. Arginaz	36
2.7.1.19. Kolesterol α -Glukosiltransferaz.....	37
2.7.1.20. γ -Glutamyl-Transpeptidase.....	38
2.7.1.21. Nötrofil-Aktive Edici Protein	39
2.7.1.22. High Temperature Requirement A (HtrA)	40
2.7.1.23. Isı Şok Proteinleri	41
2.7.2. Hastaya Ait Faktörler	42
2.7.2.1. Doku Polimorfizmi	42
2.7.2.2. IL6 Polimorfizmi	43
2.7.2.3. IL-8 Polimorfizmi.....	43
2.7.2.4. IL-10 Polimorfizi	44
2.7.2.5. IL-17 Polimorfizmi.....	44
2.7.2.6. IL-19 Polimorfizmi.....	45
2.7.3. Çevresel Faktörler, Beslenme Alışkanlıkları ve Sigara	45
2.8. <i>H. pylori</i> ve İmmünite	46

2.9. <i>H. pylori</i> ve Hastalıklar	47
2.9.1. <i>H. pylori</i> ve Kronik Gastrit	47
2.9.2. <i>H. pylori</i> ve Mide Kanseri.....	47
2.9.3. <i>H. pylori</i> ve Peptik Ülserler	48
2.10. <i>H. Pylori</i> Tanı	49
2.10.1. Endoskopi ve Klinik Tanı	49
2.10.2. Mikrobiyolojik Tanı.....	49
2.10.2.1. İnvaziv Testler	49
2.10.2.1.1. Hızlı Üre Testi (RUT).....	49
2.10.2.1.2. Histoloji	50
2.10.2.1.3. Kültür.....	52
2.10.2.1.4. Moleküler Tanı Testleri	53
2.10.2.2. Non-İnvaziv Testler	54
2.10.2.2.1. Üre Nefes Testi (UBT)	54
2.10.2.2.2. Dışkıda Antijen Arayan Testler (SAT).....	55
2.10.2.2.3. Seroloji.....	56
2.11. <i>H. Pylori</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi	58
2.11.1. Genel Tedavi Yaklaşımları	58
2.11.2. Antibiyotik Direnci	59
2.11.3. Aşı Çalışmaları.....	60
3. GEREÇ ve YÖNTEM	62
3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması	62
3.2. Çalışma Dizaynı ve Moleküler Uygulamalar	62
3.2.1. Biyopsi Örneklerinden DNA İzolasyonu.....	63
3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu.....	64
3.2.3. Pozitif Kontrol Suşunun Canlandırılması ve DNA İzolasyonu	65
3.2.4. İzole Edilen DNA Miktarının Nanodrop ile Ölçülmesi	66
3.3. PCR Uygulamaları	66
3.3.1. <i>H. pylori</i> ureC (glmM) Geninin Amplifikasyonu	66
3.3.2. Konak Doku Polimorfizminin Belirlenmesi	67
3.3.2.1. IL-6 Geninin Amplifikasyonu ve Hin1II (NlaIII) Enzimi ile Kesimi	67

3.3.2.2. IL-8 Geninin Amplifikasyonu ve MunI (MfeI) Enzimi ile Kesimi	69
3.3.2.3. IL-10 Geninin Amplifikasyonu ve MaeIII Enzimi ile Kesimi...	70
3.3.2.4. IL-17A Geninin Amplifikasyonu ve XagI (EcoNI) Enzimi ile Kesimi	72
3.3.2.5. IL-19 Geninin Amplifikasyonu ve Hind III Enzimi ile Kesimi ..	73
3.4. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntülenmesi.....	75
3.5 Solüsyonların Hazırlanması	75
3.5.1. 10X TBE Solüsyonunun Hazırlanması	75
3.5.2. Üreli buyon Solüsyonunun Hazırlanması	75
3.5.3. TE Solüsyonunun Hazırlanması	76
4. BULGULAR.....	77
4.1. Hasta grubunun verileri:.....	77
4.2. Kontrol grubunun verileri:	82
5. TARTIŞMA.....	84
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	90
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	118

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2.1. <i>H. pylori</i> 'nin global prevalans koroplet haritası	6
Şekil 2.2. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin patojenitesi	17
Şekil 2.3. Mide karsinogenezinde <i>Helicobacter pylori</i> virölans faktörlerinin patojenitesinin özeti	26
Şekil 2.4. <i>Helicobacter pylori</i> suşlarında fenotipik antibiyotik direncinin oranı	60
Şekil 3.1. 5'-CCAAGTTTAATCATAGCTCCTTATAG-3' ve R 5' GGTTCCTTAGATCTCACACAGG-3' primerleri ile amplifiye edilen IL 19 gen bölgesinin dizi analizi	74
Şekil 4.1. glmM' nin (294 bp) elektroforez sonucu görüntüsü.....	79
Şekil 4.2. IL-6-174 polimorfizmine ait 300 bp uzunluğundaki amplikonların, Hin1II (NLAIII) restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra elde edilen DNA fragmanları.....	80
Şekil 4.3. IL-8-251 polimorfizmine ait 108 bp uzunluğundaki amplikonların MunI (MfeI) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanları.....	80
Şekil 4.4. IL-10-819 polimorfizmine ait 588 bp uzunluğundaki amplikonların MaeIII restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanlarının.....	81
Şekil 4.5. IL-17A polimorfizmine ait 102 bp uzunluğundaki amplikonların XagI (EcoNI) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanları.....	81

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2.1. Helikobakter'lerin sınıflandırılması.....	8
Tablo 2.2. Helicobacter cinsinde şimdiye kadar tanımlanmış taksonimler	8
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primer çiftleri ve hedef gen uzunlukları	63
Tablo 3.2. <i>H. pylori</i> ureC (glmM) Geninin amplifikasyon aşamaları	67
Tablo 3.3. IL-6 Geninin amplifikasyon aşamaları.....	68
Tablo 3.4. IL-8 Geninin amplifikasyon aşamaları.....	69
Tablo 3.5. IL-10 Geninin amplifikasyon aşamaları.....	71
Tablo 3.6. IL-17A Geninin amplifikasyon aşamaları	72
Tablo 3.7. IL-19 Geninin amplifikasyon aşamaları.....	74
Tablo 4.1. Hastaların <i>H. pylori</i> sonucuna göre dağılımı.....	78
Tablo 4.2. <i>H. pylori</i> pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı.....	78
Tablo 4.3. <i>H. pylori</i> pozitif hastaların endoskopik bulgulara göre dağılımı.....	79
Tablo 4.4. <i>H. pylori</i> glmM Pozitif hastalarda tespit edilen polimorfizm prevelanslarının cinsiyete göre dağılımı.	82
Tablo 4.5. <i>H. pylori</i> glmM Pozitif hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda tespit edilen polimorfizmlerin kombinasyon insidansları.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α CGL	: Cholesteryl α -Glucoside
α CgT	: Cholesteryl α -Glucosyl Transferase
AG	: Antral Gastrit
AlpA	: Adherence-Associated Lipoprotein A
AlpB	: Adherence-Associated Lipoprotein B
BabA	: Blood Group Antigen Binding Adhesin
Cag	: Cytotoxin Associated Gene
Cag A	: Cytotoxin Associated Gene A
cagPAI	: Cag Pathogenicity Island
CEACAM	: Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecules
Cu/Zn-SOD	: Copper-Zinc Superoxide Dismutase
CXCR7	: CXC Chemokine Receptor 7
DupA	: Duodenal Ulcer Promoting Gene A
EC-SOD	: Extracellular Matrix Superoxide Dismutase
GC	: Gastric Cancer
GGT	: γ -Glutamyl-Transpeptidase
H. pylori	: Helicobacter Pylori
HopQ	: Helicobacter Pylori Outer Membrane Protein Q
HopZ	: Helicobacter Pylori Outer Membrane Protein Z
Hsps	: Heat Shock Proteins
HtrA	: High Temperature Requirement A
IceA	: Induced By Contact With Epithelium Gene A
IL	: Interleukin
iNOS	: Nitric Oxide Synthase
LabA	: LacdiNAc-Specific Adhesin
(Le) Antigen	: Lewis Antigens
LPS	: Lipopolysaccharide
LRP-1	: Lipoprotein Receptor-Related Protein-1
MALT	: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma
MAP	: Mitogen-Activated Protein

MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
MD-2	: Myeloid Differential Protein-2
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MMP-1	: Matrix Metalloproteinase 1
Mn-SOD	: Manganese Superoxide Dismutase
Mox1	: Mitogen Oxidase 1
NAP	: Neutrophil-Activating Protein
NUD	: Non-Ulcer Dyspepsia
OipA	: Outer Inflammatory Protein A
OMP	: Outer Membrane Protein
OMPLA	: Outer Membrane Phospholipase A
OMVs	: Outer Membrane Vesicles
PAI-2	: Plasminogen Activator Inhibitor-2
PD-1	: Programmed Death-ligand 1
PLA1	: Phospholipase A1
PLA2	: Phospholipase A2
PLC	: Phospholipase C
PLC-IP3	: Phospholipase C – Inositol 1,4,5-Trisphosphate
PLD	: Phospholipase D
ROS	: Reactive Oxygen Species
RPTP α	: Receptor-Like Protein Tyrosine Phosphatases α
RPTP β	: Receptor-Like Protein Tyrosine Phosphatases β
SabA	: Sialic Acid-Binding Adhesin
SOD	: Superoxide Dismutase
T4SS	: Type 4 Secretion System
TF	: Tissue Factor
TFF	: Trefoil Factor Family
TGF- β 1	: Transforming Growth Factor-Beta 1
TLR4	: Toll-Like Receptor 4
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
VacA	: Vacuolating Cytotoxin
Vn	: Vitronectin

ÖZET

HELICOBACTER PYLORI ÜST GASTROİNTESTİNAL PATOLOJİSİ OLAN HASTALARDAKİ IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A VE IL-19 GEN EKSPRESYONLARI VE MUTASYONLARININ KLİNİK KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Helicobacter pylori (*H. pylori*), dünya nüfusunun yarısından fazlasını enfekte eden ve midede neoplastik ve inflamatuvar gastroduodenal hastalıkların major sebebi olan bir gastrik patojendir. Günümüzde *H. pylori*'nin kronik gastrit, peptik ülser hastalığı, mide kanseri, mukoza ilişkili lenfoid doku lenfoması gibi çeşitli üst gastrointestinal sistem (GİS) hastalıkları ile ilişkisi gösterilmiştir. *H. pylori* enfeksiyonundaki anahtar patofizyolojik olaylar, *H. pylori* antijenlerine karşı epitel hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği ve düzenlediği mide mukozasındaki inflamatuvar cevabın sonucudur. *H. pylori* ile indüklenen gastrik mukozal inflamasyona proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler aracılık etmektedir. Sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokin salgılama seviyelerini etkilediği ve gastroduodenal patolojinin prognozu için belirleyici olduğu düşünülmektedir. Mide patolojileri, konağın genetik yapısı ile *H. pylori* virülans genleri arasındaki karmaşık bir etkileşim içinde gelişmektedir. Hastalardaki IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 gibi sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokinlerin salgı seviyelerini etkilediği ve GİS patolojisinin gelişmesine sebep olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple çalışmamızda hastalardaki bu genlerdeki polimorfizmleri ve bunların *H. pylori* enfeksiyonu ve mide patolojileri ile ilişkisinin belirlenmesini amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla bölgemizdeki yataklı tedavi kurumlarına üst GİS yakınması ile başvuran ve tanı amaçlı olarak endoskopi eşliğinde mide biyopsi örnekleri alınan 200 hastaya ait örnek ve bu örneklerden izole edilen *H. pylori* suşları çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak her hangi bir üst GİS yakınması olmayan 50 gönüllü katılımcıdan alınan tam kan örnekleri kullandı. Hasta biyopsi örnekleri moleküler yöntemler ile hem *H. pylori* ureC geni varlığı yönünden hem de *H. pylori*'ye bağlı çeşitli GİS patolojilere eşlik eden IL-6-174, IL-8-251, IL-10-819, IL-17A ve IL-19 genlerinin polimorfizmi, PCR-RFLP ile genotiplendirildi. Aynı şekilde kontrol grubundada belirtilen gen bölgelerilerinin polimorfizmleri PCR RFLP ile genotiplendirildi.

Bulgular: *glmM*-PCR analizi sonucunda, 200 semptomatik hastanın 69 (% 34,5)'unda *H. pylori* DNA'sı tespit edildi. IL-8 -251 polimorfizminde T/A genotipi hasta grubunda %73,91'iken kontrol grubunda %48 oranında ve IL-17A polimorfizmi G/A genotipi hasta grubunda %56,52'iken kontrol grubunda %42 olarak tespit edildi. IL-6-174 ve IL-10-819 polimorfizimleri ve gastroduodenal patoloji arasında ilişkili bulunmadı.

Sonuç: *H. pylori* enfeksiyonunda sitokinlerde meydana gelen gen polimorfizmleri, gastrik inflamasyonu etkilemektedir. Bu genlerdeki polimorfizmler ve *H. pylori* enfeksiyonu arasındaki muhtemel ana yol olarak kabul edilen bu etkileşim, farklı gastrik hastalıklara sebep olur. Yüksek risk taşıyan GİS hastalarında, *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinde konak genotiplerinin belirlenmesi hedef olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, gastrik patoloji, sitokin, İnterlökin

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE CLINICAL CORRELATION OF IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, AND IL-19 GENE EXPRESSIONS AND MUTATIONS IN PATIENTS WITH UPPER GASTROINTESTINAL PATHOLOGY OF *HELICOBACTER PYLORI*

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a gastric pathogen that infects more than half of the world's population and the major cause of neoplastic and inflammatory gastroduodenal diseases of the stomach. Today, the association of *H. pylori* with upper gastrointestinal system (GIS) diseases such as chronic gastritis, peptic ulcer disease, gastric cancer, mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALT) has been shown. The pathophysiological key to *H. pylori* infection is the result of the inflammatory response of the gastric mucosa by inflammatory cytokines produced by epithelial cells against *H. pylori* antigens. This gastric mucosal inflammation induced by *H. pylori* is mediated by proinflammatory and anti-inflammatory cytokines. Polymorphisms in genes encoding cytokines are thought to affect cytokine secretion levels and are determinative for the prognosis of gastroduodenal pathology. Gastric pathologies are develop in a complex interaction between the genetic structure of the host and the *H. pylori* virulence genes. It is thought that polymorphisms in genes encoding cytokines such as IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A and IL-19 in patients affect the secretion levels of cytokines and cause the development of GIS pathology. For this reason, our study we aimed to determine the polymorphisms of these genes in patients and their relationship with *H. pylori* infection and gastric pathologies.

Materials and Methods: For this purpose, samples of 200 patients who applied to inpatient treatment institutions in our region with upper GIS complaints and whose gastric biopsy samples were taken with endoscopy for diagnostic purposes, and *H. pylori* strains isolated from these samples were included in the study. As a control group, we used whole blood samples from 50 volunteer participants who did not have any upper GIS complaints. Patient biopsy specimens were evaluated by molecular methods both in terms of the presence of the *H. pylori* ureC gene and IL-6-174, IL-8-251, IL-10-819, IL-17A, and IL-19 accompanying various GIS pathologies due to *H. pylori*. The polymorphism of the genes was genotyped by PCR-RFLP. Also, the polymorphisms of the gene regions specified in the control group were genotyped by PCR RFLP.

Results: As a result of glmM-PCR analysis, *H. pylori* DNA was detected in 69 (34,5%) of 200 symptomatic patients. In the IL-8 -251 polymorphism, the T/A genotype was 73,91% in the patient group, 48% in the control group, and in the IL-17A polymorphism, the G/A genotype was 56,52% in patient group, while it was 42% in the control group. No correlation was found between IL-6-174 and IL-10-819 polymorphism and gastroduodenal pathology.

Conclusion: In *H. pylori* infection, cytokine gene polymorphisms affect gastric inflammation. This interaction, which is considered as the possible main pathway between polymorphisms in these genes and *H. pylori* infection, causes different gastric diseases. Determination of host genotypes can be used as a target in the treatment of *H. pylori* infection in high-risk GIS patients.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastric pathology, cytokine, interleukin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori (*H. pylori*), kronik olarak dünya nüfusunun yarısından fazlasını enfekte eden ve midede neoplastik ve inflamatuvar gastroduodenal hastalıkların major sebebi olan gastrik bir patojendir. Günümüzde *H. pylori*'nin kronik gastrit, peptik ülser hastalığı, mide kanseri, mukoza ilişkili lenfoid doku lenfoması gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir ¹. *H. pylori* enfeksiyonundaki anahtar patofizyolojik durum, epitel hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği ve düzenlediği mide mukozasındaki inflamatuvar cevabın indüklenmesidir ²⁻⁴. *H. pylori* ile indüklenen bu gastrik mukozal inflamasyona proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler aracılık eder. Sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokin salgılama seviyelerini etkilediği ve mide hastalıkları için risk oluşturduğu düşünülmektedir. Gastrik patolojiler, konağın genetik yapısı ile *H. pylori* virülans genleri arasındaki karmaşık bir etkileşim içinde gelişmektedir. İnterlökin IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 gibi sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokinlerin salgı seviyelerini etkilediği ve GİS hastalıklarının gelişmesine sebep olduğu düşünülmektedir ⁵⁻⁷.

Bu amaçla bölgemizdeki yataklı tedavi kurumlarına üst GİS yakınması ile başvuran ve tanı amaçlı olarak endoskopi eşliğinde mide biyopsi örnekleri alınan hastalara ait örnekler ve bu örneklerden izole edilen *H. pylori* suşları dahil edilmiştir. Hasta biyopsi örnekleri moleküler yöntemler ile hem *H. pylori* ureC geni varlığı yönünden hem de *H. pylori*'ye bağlı çeşitli GİS patolojilere eşlik eden IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 genlerinin polimorfizmin yönünden ve kontrol grubu olarak da herhangi bir üst GİS yakınması olmayan gönüllülerden alınan tam kan örnekleri değerlendirmeye alınmıştır. Bu polimorfizmler tek başlarına ve birlikte prognoza olan etkilerinin tespiti ve bunların *H. pylori* enfeksiyonu ve mide patolojileri ile ilişkisini belirlemek hem konağa ait allelik polimorfizmin tek başına taşıdığı muhtemel riski belirlemek hem de toplumdaki allelik polimorfizm oranlarını tespit edebilmek için değerlendirilmiştir. Çalışma, hasta grubu ve kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece bu polimorfizmlerin, gastrit, peptik ülser hastalığı ve mide kanseri gibi üst gastrointestinal patolojileri ile ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Gastrointestinal hastalıkların tanımının ilk kayıtlı tarihi, gastrik semptomların epigastrik yanma ve şişkinlik olarak tanımlanan Hipokrat zamanına dayanmaktadır ⁸. Yaklaşık bin yıl sonra, Abu-'Alia A'-Hüseyn İbn-Sinn (980-1037), gastrik ülser ağrısı ve yemek öğünleri arasındaki ilişkiyi öne sürerek gastrik ağrı ve piroz gibi belirtilerin gastrik ülser varlığıyla ilişkili olabileceğini ortaya atmıştır. Muhtemelen ilk kaydedilen gastrik ülser vakası, 1586'da İtalyan doktor Marcello Donati (1538-1602) tarafından tanımlanmıştır. Alman bakteriyolog G. Bottcher ve Fransız arkadaşı M. Letulle 1875'te ülser tabanında ve mukozal kenarlarında bakteri kolonilerini göstererek bu bakterilerin lezyonla ilişkili olabileceğini iddia etmişlerdir. Daha sonra 1881 yılında patolog C. Klebs, basil benzeri bir organizmanın hem gastrik lümeninde hem de gastrik hücrelerin arasında serbest bir şekilde ve tunika propriada, basillus bezeri organizmaların varlığını belirtmiştir ancak bu konu çok fazla ilgi çekmemiştir ⁹. Spiral organizmalar 1838'de Ehrenburg tarafından tanımlanmıştır, ancak hayvanların gastrointestinal kanalındaki spiral organizmaların varlığını bildiren ilk kişinin Bottcher olduğu düşünülmektedir ¹⁰. 1889'da, Walery Jaworski, spiral şeklindeki organizmaları ilk olarak otopsi yapılan kişilerin mide yıkantı sularının sedimentinde ayrıntılı bir şekilde tanımlamış, bunların diğer basillerden farklı olarak, düzenli sarmallar şeklinde olduklarını ve gastrik patoloji ile ilişkili olduklarını öne sürmüştür ve bu bakterileri *Vibrio regula* olarak isimlendirmiştir. Bu sebeple W. Jaworski gastroduodenal hastalıklar konusunda “bir öncü” olarak kabul edilebilir ¹¹. İtalyan anatomist G. Bizzozero 1893 yılında öğrencisi Camillo Golgi ile 6 köpeğin gastrik mukoza örneklerinde gastrik bezleri infiltre eden, hem sitoplazma içerisinde hem de parietal hücre vakuollerinde bulunan ve günümüzde *H. Heilmannii* (*Gastrospirillum hominis*) olarak bilinen organizmanın varlığını tanımlamıştır. Bu organizmanın hem pilorik hem de fundik mukozayı etkilediğini ve dağılımının gastrik bez tabanından yüzey mukozasına kadar uzandığını belirtmiştir ^{9, 12}. Üç yıl sonra, 1896'da spiroketleri köpeklerin, kedilerin ve farelerin mide mukozasında tespit eden H. Salomon bu bakteriyi beyaz farelerin mide mukozasına kolonize etmeyi başarmıştır ^{9, 13}. 1906 da W. Krienitz mide kanseri olan hastaların mide örneklerinde spiroketleri göstererek Jaworski'nin hipotezini desteklemiştir ¹⁴. 1938'te J.L. Doenges,

macacus rhesus maymununun gastrik bezlerinde bu organizmaları gözlemlemiştir ve daha sonra otopsisı yapılan 242 kişinin %43'ünün midesinde "spiroketleri" tanımlamıştır, ancak otoliz örneklerin çoğunu patolojik tanı için uygun olmayan hale getirdiği için hiçbir sonuç çıkaramamıştır^{15, 16}. S. Freedberg ve L. Baron 1940 yılında, 35 hastanın %37'sinin gastrik örneklerinde spiroketleri tespit etmişlerdir. Fakat bütün bu çalışmalar sadece hipotez aşamasında kalmıştır¹⁷.

1979'da patolog Robin Warren, histolojik inceleme için gönderilen mide biyopsi örneklerinde genellikle spiral bakterilerin bulunduğunu gözlemlemiştir ve bu organizmaların mide mukozasına değil, dokuyu örten mide mukus tabakasının altına yerleştiğini fark etmiştir^{15, 18}. Daha sonra Barry Marshall, Warren'ın gözlemleriyle ilgilenmeye başlayarak bu mikroorganizmaları ilk defa 1982 yılında in vitro şartlarda üretmiştir¹⁵. Organizmaların spiral, gram negatif çubuklar görünümünde olduğunu bildikleri için, selektif besiyerlerine ekilen biyopsi örneklerini mikroaerofilik şartlarda 48 saat kampilobakter türleri için geçerli olan yöntemlerle inkübe ettiler. Çoğu kampilobakter bu koşullar altında 48 saat içinde üredikten, gözle görülür üreme olmayan yaklaşık 30 hastanın ilk kültürleri negatif olarak değerlendirilmiş ve bu petripler 3 gün içinde atılmıştır, ancak şans eseri kültürlerden biri Paskalya tatili nedeniyle 5 gün boyunca inkübe edilmiş ve bu besiyerinin yüzeyinde koloniler ürettiği gözlemlenmiştir¹⁷. Daha sonra, spiral mikroorganizmalar 11 hastadan izole edilmiş ve bakterilerle gastrik mukozada kronik süperfisiyal gastrit ile uyumlu inflamasyonun, özellikle de kronik aktif gastrit için karakteristik olan PMNL infiltrasyonu birlikteliğini vurgulayarak, gastroduodenal patoloji ile spiral şeklindeki bu mikroorganizmaların ilişki olduğunu ortaya atmışlardır. Marshall ve arkadaşları, Koch postulatını gerçekleştirmek için kültür ortamında ürettikleri *H. pylori* suşlarını sıvı bir şekilde yutup kendilerini infekte etmişler ve böylelikle 15 gün içerisinde gastrik ağrı ve yanma şikayetlerinin arttığı, gastrik biyopsi örneklerinde de akut inflamatuvar cevabın başladığını tespit etmişlerdir. Bu gözlemlere dayanan Dr.Marshall, bu bakterinin sadece mideyi infekte etmediğini, aynı zamanda mide dokusunda inflamasyonu arttırdığını da deneysel olarak ispatlamıştır. Bu verilere göre bakterinin özellikle antral gastrit ve ülser ile etyolojik ilişkisi olduğu kesinlik kazanmıştır. Bu çalışmalar Marshall ve Warren'e 2005 yılında "Nobel Tıp" ödülü kazandırmıştır¹⁹⁻²¹. Bu bakteri morfolojik olarak *Campylobacter*'e benzediği ,ancak yapısal ve biyokimyasal bakımdan *Campylobacter* ve

daha önce tanımlanan hiçbir mikroorganizmaya benzemediği için ‘Campylobacter like organism (CLO)’ adı verilmiştir. Bu bakteri, 1984'te Marshall tarafından *C. pyloridis* olarak adlandırılmıştır^{17, 22}. Yapılan 16S rRNA dizi analizi çalışmaları, bu bakterinin Campylobacter’lerden farklı olduğunu tanımlanmıştır. 1989'de Goodwin ve ark bu bakteriyi Campylobacter cinsinden tamamen ayırmış yeni bir cinse ait olduğunu tespit ederek, helikal yapısından ve daha çok midenin pilor bölgesinden izole edilmesi nedeniyle bu yeni cinsi “*Helicobacter*” olarak tanımlamışlar ve *Campylobacter pylori*, *Helicobacter pylori* olarak değiştirilmiştir²³.

Yapılan birçok çalışma sonucunda *H. pylori*'nin gastroduodenal hastalıklarla ilişkisini belirlemek için, bakterinin gastrik kolonizasyonu ile MALT ve gastrik adenokarsinoma lenfoma arasındaki ilişki gözlemlenmiş ve 1991'de yapılan 4 farklı çalışmada MALT lenfoma hastalarında eradikasyon tedavisi sonrasında iyileşme gözlenmiştir. Bu veriler doğrultusunda 1994 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün bir kolu olan Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Cancer Research) ilk defa bir bakterinin Tip I karsinojen olduğunu ilan etmiştir²⁴⁻²⁷.

National Institute of Health (NIH) konferansında aynı yılda peptik ülser hastalığında, *H. pylori* en önemli etken olarak duyurulmuştur ve gastrik ülserleri olan *H. pylori* ile enfekte hastalarda, organizmanın eradikasyonu için antibakteriyel tedavi önerilmiştir²⁸.

2.2. Prevalans

Dünya nüfusunun yarısının *H. pylori* ile enfekte olduğu düşünülse de, enfeksiyon prevalansı ülkeler arasında ve her ülkenin farklı bölgelerinde farklılık göstermektedir. Prevalans tek bir şehir içinde ve hatta bir popülasyon içindeki alt gruplar arasında bile değişebilmektedir²⁹. *H. pylori* enfeksiyonu üzerine yapılan sistematik bir çalışmada, en yüksek *H. pylori* enfeksiyonunun Asya, Orta Amerika ve Güney Amerika ülkelerinde olduğunu göstermiştir³⁰. Mide kanseri prevalansı son on yılda dünya çapında azalmasına rağmen, hala dünyada kansere bağlı ölümlerin üçüncü önde gelen nedenidir ve yalnızca 2018'de 782,685 ölümle sebep olmuştur³¹.

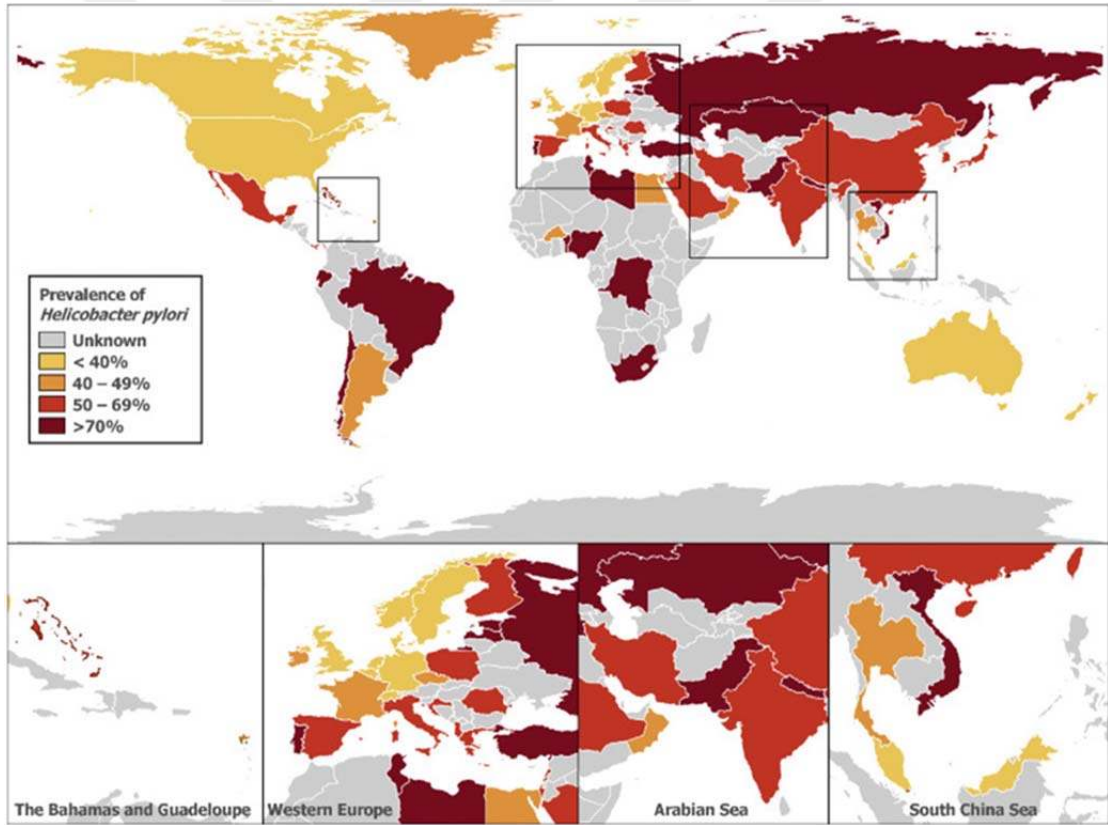
Normal koşullar altında, *H. pylori* enfeksiyonlarının çoğu erken çocukluk döneminde gerçekleşir ve daha sonra ömür boyu devam eder. Enfeksiyon oranlarının yüksek olduğu ülkelere seyahat eden turistler ve misyonerler veya bu ülkelere yaşayan

yetişkinler genellikle enfekte olmazlar. *H. pylori* ile enfekte olan hastaları tedavi eden sağlık personeli, *H. pylori* enfeksiyonuna yakalanma konusunda genellikle istisnai olarak yüksek mesleki risk taşımazlar³²⁻³⁷.

2017'de 62 ülkede toplam 257,768 katılımcı ile yapılan bir meta analiz çalışmasında *H. pylori* prevalansının incelenmesi sonucu 531,880 (%48.5) katılımcının *H. pylori* pozitif olduğu tespit edilmiştir. En çok Çin (n = 21), Kore (n = 12), Japonya (n = 11), Amerika Birleşik Devletleri (n = 10), Almanya (n = 8) ve İran (n = 8) ülkeleri rapor edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avustralya'nın yerli nüfusunda *H. pylori* yaygınlığı genel nüfustan daha yüksek bulunmuştur. Avustralya'da, genel nüfus için birleştirilmiş *H. pylori* yaygınlık tahmini %24,6 iken, Batı Avustralya'nın kırsal kesiminde yerli toplulukta %76.0'ya kadar yükseldiği görülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nde, genel popülasyon için birleştirilmiş *H. pylori* yaygınlık tahmini %35.6 iken, Alaska yerli popülasyonunda %74.8 olarak tespit edilmiştir. *H. pylori* prevalansı en yüksek olan ülkeler Nijerya %87.7, Portekiz %86.4, Estonya %82.5, Kazakistan %79.5 ve Pakistan %81.0 olarak tespit edilmiştir. En düşük olan ülkeler ise İsviçre %18.9, Danimarka %22.1, New Zelanda %24.0, Avustralya %24.6 ve İsveç %26.2 olarak belirlenmiştir. *H. pylori* prevalansının en yüksek olduğu bölgeler Afrika %70.1, Güney Amerika %69.4 ve Batı Asya %66.6 ve en düşük olduğu bölgeler ise Okyanusya %24.4 , Batı Avrupa %34.3 ve Kuzey Amerika %37.1 olarak tanımlanmıştır. *H. pylori* prevalansını zamana göre değerlendirmek amacıyla, iki zaman dilimi (1970-1999 ve 2000-2016) kullanılmıştır. 2000'den sonra *H. pylori* prevalansı Avrupa'da öncekinden %48.8'den %39.8'e , Kuzey Amerika'da %42.7'den %26.6'e ve Okyanusya'da %26.6'dan %18.7'ye düşmüştür. Ancak *H. pylori* pozitifliğinin prevalansı Asya'da (2000'den önce %53.6'ya karşı 2000'den sonra %54.3), Latin Amerika'da ve Karayipler'de (2000'den önce %62.8'e karşı 2000'den sonra %60,2) benzerlik göstermeye devam etmiştir. 2015 yılında dünya nüfusuna yapılan tahminden sonra, küresel olarak 4,4 milyar kişinin *H. pylori* pozitif olduğu tahmin edilmektedir³⁸.

Türkiye'de yapılan çalışmalar *H. pylori* enfeksiyon oranının yüksek olduğunu göstermektedir. 2010 yılında Uyanıkoğlu ve ark. 1298 hastadan aldıkları antrum biyopsi örneklerinin 918'inde *H. Pylori* pozitifliği tespit etmişlerdir. *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı erkek ve kadınlarda benzer olup, enfeksiyon insidansı 14-30 yaş arasında %73.2, 31-45 yaş arasında %71.5, 46 yaş arasında %68.6'dır ve 60 ile 88 yaşları

arasında %70.4 olarak tespit edilmiştir ³⁹. Özen ve ark. 2011 yılında İstanbul'da dört farklı okulda öğrenim gören 473 çocuktan 161'inde, *H. pylori* pozitifliği bulmuşlardır ⁴⁰. Benzer şekilde, Özaydın ve ark. 2013 yılında C-üre nefes testi ile 55 şehirde 4622 kişide *H. pylori* enfeksiyonu taraması yapmış ve 3852 kişide (2075 kadın ve 1777 erkek) *H. pylori* pozitifliği tespit etmişlerdir ⁴¹. Hooi ve ark. tarafından yapılan derlemede Türkiye'de 2015 yılına kadar üç çalışma yapıldığı, toplam katılımcı sayısının 6036 olduğu ve prevalansın %77.2 olduğu bildirilmiştir ³⁸. Soylu ve ark. 2019 yılında dispeptik şikayetleri olan 18-77 yaş arası 88 hastadan (53 kadın ve 35 erkek) alınan biyopsi örneklerini incelemiş, bunlardan 46'sının *H. pylori* pozitif (21 kadın ve 25 erkek) olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam katılımcı sayısı ile karşılaştırıldığında, erkek hastalarda daha fazla *H. pylori* pozitifliği bulunmuştur ⁴².



Şekil 2.1. *H. pylori*'nin global prevalans koroplet haritası ³⁸

2.3. Bulaş

Helicobacter cinsinin uzun yıllardır tanımlanmış olmasına rağmen bulaşın kesin olarak nasıl gerçekleştiği hala net olarak anlaşılmamıştır. Ancak muhtemel yol fekal-oral, oral-oral, gastro-oral ve iatrojenik olarak kişiden kişiye kabul edilmektedir. kontamine sular ile bulaşma yönündeki görüşlede giderek güç almaktadır ⁴³. *H. pylori* enfeksiyonu genellikle çocukluk döneminde ortaya çıktığı bilinmektedir, ancak bireylerin çoğunda, asemptomatik olarak devam etmekte ⁴⁴. Aile içi bulaş çoğu bölgedeki bulaşımın ana yayılma mekanizmasıdır. Eşler arasında bulaş ise horizontal olarak gerçekleştiği bilinmektedir, ancak henüz cinsel yolla bulaşmaya dair kanıt bulunmamaktadır ^{45, 46}. Genellikle gelişmekte olan sosyoekonomik durumu ve hijyen seviyeleri düşük olan ülkelerde prevalansı yüksektir. *H. pylori*'nin Küresel ve bölgesel prevalansı şimdiye kadar sistematik olarak bildirilmemiştir ^{38, 47}.

2.4. Sınıflandırma

Gastrik mikroorganizmalarının taksonomisinin geliştirilmesindeki en önemli aşama 1989 yılında, *H. pylori*'nin *Campylobacter* cinsinden çıkartılarak *Helicobacteraceae* ailesi *Helicobacter* cinsi içerisinde bir tür olarak yeniden sınıflandırılmasıdır ⁴⁸⁻⁵⁰. *Helicobacter* cinsi, hem insan hem de hayvan gastrointestinal sistemine kolonize edilebilen en az 48 farklı türden oluşan bir bakteri grubudur ^{44, 51-54}.

Ekolojik ve filogenetik analizlere dayanarak, bu cinse ait bakteriler kabaca iki ana gruba ayrılabilir: Gastrik (GH) ve Enterohepatik *Helicobacter* (EHH) türleri ⁵⁵. *H. pylori*'nin yanı sıra, *H. pylori* olmayan *Helicobacter* (NHPH) olarak adlandırılan diğer gastrik bakteriler hem insan hem de hayvan midesinde bulunmuştur ⁵⁶⁻⁵⁹. İnsanlarda en yaygın gastrik NHPH, *H. suis*, *H. heilmannii*, *H. felis*, *H. salomonis* ve *H. bizzozeronii*'dir ⁶⁰⁻⁶². İnsan NHPH enfeksiyonu, *H. pylori*'den önemli derecede daha düşüktür (insan mide biyopsilerinin %0.2-%6.0'ı). ancak bu değerler, uygun tanı araçlarının bulunmaması nedeniyle muhtemelen olduğundan daha az tahmin edilmektedir ⁶¹. *H. pylori*'ye benzer şekilde, NHPH enfeksiyonu, genellikle gastrit, antral erozyonlar ve duodenum ülserlerinin eşlik ettiği mide rahatsızlıkları ile ilişkili olabilmektedir ^{51, 61, 63}. İlginç bir şekilde, gastrit düşük dereceli MALT lenfoma gelişme riski, NHPH enfeksiyonu ile *H. pylori* ile olduğundan daha yüksektir ^{64, 65}.

Tablo 2.1. Helikobakter'lerin sınıflandırılması

Alem (Domain / empire):	Bacteria
Şube(Division / phylum):	Proteobacteria
Sınıf(Class):	Epsilon proteobacteria
Takım(Order):	Campylobacterales
Aile(Family):	Helicobacteraceae
Cins(Genus):	Helicobacter

Tablo 2.2. Helicobacter cinsinde şimdiye kadar tanımlanmış taksonimler ⁶⁶

Türler	Numune menşei	Ülke	Referanslar
Gastric Helicobacter			
Validated			
H. pyloria	Human/duodenal biopsy	Australia	Marshall et al. 1984
H. felis	Cats/gastric mucosa	United States	Paster et al. 1991
H. acinonychis	Cheetahs (Acinonyx jubihzhu)/gastric biopsy	United States	Eaton et al. 1993
H. bizzozeronii	Dogs/gastric biopsy	Finland	Hänninen et al. 1996
H. salomonis	Syrian hamsters/faecal samples	United States	Jalava et al. 1997
H. cetorum	Cetaceans/stomach and faecal samples	United States	Harper et al. 2002
H. cynogastricus	Dogs/gastric biopsy	Belgium	Van den Bulck et al. 2006
H. baculiformis	Cats/gastric mucosa	Belgium	Baele, Decostere, Bulck, et al. 2008
H. suis	Pigs/gastric mucosa	Belgium	Baele, Decostere, Vandamme, Ceelen, et al. 2008
H. heilmannii	Cats/gastric mucosae	Belgium	Smet et al. 2012
H. ailurogastricus	Cats/gastric mucosae	Belgium	Joosten et al. 2016
H. enhydrae	Southern sea otters/inflamed gastric tissue	United States	Shen et al. 2017
H. labacensis	Red fox/gastric mucosae	Slovenia	Gruntar et al. 2020
H. mehlei	Red fox/gastric mucosae	Slovenia	Gruntar et al. 2020
H. vulpis	Red fox/gastric mucosae	Slovenia	Gruntar et al. 2020
Non-Validated			
“H. suncus”	House musk shrew/ stomach tissue	Japan	Goto et al. 1998
“H. delphinicola”	Common bottlenose dolphins Tursiops truncatus/gastric fluid	Japan	Segawa et al. 2020
Candidatus			
Candidatus H. bovisb	Cattle/abomasal stomachs	Belgium	De Groote et al. 1999

Tablo 2.2. *Helicobacter* cinsinde şimdiye kadar tanımlanmış taksonimler ⁶⁶(devamı)

Türler	Numune menşei	Ülke	Referanslar
Enterohepatic <i>Helicobacter</i>			
Validated			
<i>H. cinaedi</i>	Human/blood and rectal swabs of homosexual men	United States	Totten et al. 1985
<i>H. fennelliae</i>	Human/rectal swabs of homosexual men	United States	Totten et al. 1985
<i>H. mustelaec</i>	Ferrets/gastric mucosa	United States	Fox et al. 1988
<i>H. muridarum</i>	Rats and mice/intestinal mucosa	Canada	Lee et al. 1992
<i>H. canis</i>	Dogs/faecal samples	United Kingdom	Stanley et al. 1993
<i>H. hepaticus</i>	Mice/colons, caeca and livers (chronic hepatitis)	United States	Fox et al. 1994
<i>H. pametensis</i>	Wild birds and domestic swine/faecal samples	United States	Dewhirst et al. 1994
<i>H. pullorum</i>	Broiler and layer chickens/humans with gastrointestinal disease	United States	Stanley et al. 1994
<i>H. bilis</i>	Mice/colon and caeca; hepatitis/bile and liver	Brazil	Fox et al. 1995
<i>H. trogonum</i>	Rats/colonic mucosa	United States	Mendes et al. 1996
<i>H. cholecystus</i>	Hamster with cholangiofibrosis/gallbladder	United States	Franklin et al. 1996
<i>H. rodentium</i>	Mice/faeces, colon, and caeca	United States	Shen et al. 1997
<i>H. mesocricetorum</i>	Hamsters/faecal samples	United States	Simmons et al. 2000
<i>H. canadensis</i>	Human/diarrheic faeces	Canada	Fox et al. 2000
<i>H. aurati</i>	Syrian hamsters/stomachs and caeca specimens	United States	Patterson et al. 2000
<i>H. ganmani</i>	Mice/caeca, large bowels, small bowels and livers	Australia	Robertson et al. 2001
<i>H. typhlonius</i>	Rodents/faecal samples	United States	Franklin et al. 2001
<i>H. marmotae</i>	Woodchucks/ livers, faecal samples	United States	Fox et al. 2002
<i>H. mastomyrinus</i>	Rodents/livers, faeces and intestine	United States	Shen et al. 2005
<i>H. anseris</i>	Canada geese/faecal samples	United States	Fox et al. 2006
<i>H. brantae</i>			
<i>H. equorum</i>	Horse/faecal samples	Belgium	Moyaert et al. 2007
<i>H. macacae</i>	Rhesus monkeys/colonic tissue and faeces	United States	Fox et al. 2007
<i>H. valdiviensis</i>	Wild birds/faecal samples	Chile	Collado et al. 2014
<i>H. himalayensis</i>	Marmosets/gastric mucosa	China	Hu et al. 2015
<i>H. jaachi</i>	Marmosets/ liver, gallbladder, gastrointestinal tissues and faeces	United States	Shen et al. 2015
<i>H. canicolad</i>	Dogs/faecal samples	Japan	Kawamura et al. 2016
<i>H. japonicus</i>	Mice/stomach and intestines tissue, faecal samples	United States	Shen, Feng, et al. 2016
<i>H. saguini</i>	Cottontop tamarins/intestine and faeces	United States	Shen, Mannion, et al. 2016
<i>H. aprie</i>	Wild boars/caeca content and stomach mucosa	Italy	Zanoni et al. 2016
<i>H. monodelphides</i>	Gray short-tailed opossums/faeces, caeca or colon	United States	Shen et al. 2020
<i>H. didelphidarum</i>	Gray short-tailed opossums/faeces, caeca or colon	United States	Shen et al. 2020
<i>H. turcicus</i>	Anatolian Ground Squirrel	Turkey	Aydin et al. 2022

Tablo 2.2. *Helicobacter* cinsinde şimdiye kadar tanımlanmış taksonimler 66(devamı)

Türler	Numune menşei	Ülke	Referanslar
Non-validated			
“ <i>H. rappini</i> ”	Aborted lambs, dog, mice, human faeces and pig intestines	United Kingdom	Bryner et al. 1986; Bryner 1987
“ <i>H. westmeadii</i> ”	Human/bloodstream infection of HIV-positive males with AIDS	Australia	Trivett-Moore et al. 1997
“ <i>H. winghamensis</i> ”	Human/Faeces of humans with enteric tract symptoms	Canada	Melito et al. 2001
“ <i>H. muricola</i> ”	Korean wild mice/caeca and faecal pellets	South Korea	Won et al. 2002
“ <i>H. callitrichis</i> ”	Common marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>)/faeces	Korea	Won et al. 2007
“ <i>H. magdeburgensis</i> ”	Laboratory mice/intestine	Germany	Traverso et al. 2010
“ <i>H. apodemus</i> ”	Mouse/gastrointestinal tract samples	Korea	Jeon et al. 2015
“ <i>H. caesarodunensis</i> ”	Human/bloodstream	France	van der Mee-Marquet Et al. 2017
“ <i>H. burdigaliensis</i> ”	Human/patient with hepatocellular carcinoma and gastroenteritis	France	Berthenet et al. 2019
“ <i>H. labetoulli</i> ”	Human/patient with bacteraemia	France	Berthenet et al. 2019
<i>Candidatus</i>			
<i>Candidatus</i>	Cat/intestine	United States	Foley et al. 1998
<i>H. colifelis</i>			
<i>Candidatus</i>	Chimpanzees and gorillas/fresh faecal samples	Belgium	Flahou et al. 2014
<i>H. homininaeb</i>			
Other enterohepatic helicobacters			
<i>Helicobacter</i> sp. CLO-3	Homosexual men/rectal swabs	United States	Fennell et al. 1984
<i>Helicobacter</i> sp. Bird-B	Wild bird and swine/faeces	United States	Dewhirst et al. 1994
<i>Helicobacter</i> sp. Bird-C			

2.5. Morfolojik Özellikleri

H. pylori, “S” virgül, martı veya , keskin yuvarlak uçlar gösteren kısa, spiral, sporsuz, kapsülsüz, mikroaerofilik, gram negatif bir bakterilerdir ^{22, 67}.

2.5.1. Görünüm ve Boyanma

H. pylori katı besiyeri üzerinde çubuk şeklinde görünmektedir, spiral şekillinde görünümü seyrek veya hiç yoktur ^{22, 67}. Katı veya sıvı ortamda stres koşulları altında uzun süreli kültürden sonra, kokoid formlar tipik olarak baskındır. Elektron mikroskobu ile kokoid formlar, iki kolun uçları membranöz bir yapıyla birleştirilmiş U şeklinde basiller olarak görünür. Kokoid formları metabolik olarak aktiftir; ancak in vitroda kültürü gerçekleştirilemez

(VBNC) ^{68, 69}. VBNC durumundaki bakteriler metabolik aktivitelerini, patojenitelerini ve aktif yeniden büyüme koşullarına geri dönme yeteneklerini korurlar ^{70, 71}. *H. pylori* için aktif yeniden büyüme koşullarına dönme yeteneği henüz kanıtlanmamıştır. VBNC durumundaki *H. pylori*'nin özellikle yiyecek ve su yoluyla bulaşmasındaki rolü hala tartışmalı olsa da, stresli koşulların üstesinden gelme yeteneği halk sağlığı için çok önemlidir ⁷².

Mide biyopsi örneklerinde, *H. pylori* organizmaları 2.5 ila 5.0 µm uzunluğunda ve 0.5 ila 1.0 µm genişliğindedir; bir uçta, bulunan 1-6 adet kılıflı flagellaları ile son derece hareketli bir bakteridir ^{67, 73}. Her flagella yaklaşık 30 µm uzunluğunda ve yaklaşık 2.5 nm kalınlığındadır ve uç kısımlarında topaç benzeri şişkinlik ve disklere yapalar bulunmaktadır. Bu yapılar, bakterinin gastrik mukus gibi viskoz ortamlarda tirbişon tarzı hareketi için gereklidir. Elektron mikroskopisi ile flagellaların kılıfı, hücre duvarının dış membranı ile devam ettiği tespit edilmiştir. *H. pullorum* ve *H. rodentium* gibi bazı türler kılıfsız flagellalara sahiptir ^{73, 74}.

H. pylori'nin çeşitli suşlarının genomları tamamen dizilenmiştir ^{75, 76} ve genomlar, yaklaşık 1600 geni kodlayan 1.7 milyon baz çifti içerir, %17'si *H. pylori*'ye özgüdür ^{75, 77}.

H. pylori Hematoksilen-Eozin, Modifiye Giemsa, Warthin-Starry gümüş boyası, Akridin oranj (floresan boya), Cresil-fast Moru, Gimenez ve Brown-Hopps moru gibi çeşitli histolojik boyalarla boyanabilmektedir. Hematoksilen ve eozin (H&E) boyamasının duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %69-93 ve %87-90 olarak bildirilmiştir. Ancak modifiye Giemsa boyası, Warthin-Starry gümüş boyası, Genta boyası ve immünohistokimyasal (IHC) boyası gibi özel boyalar kullanılarak özgüllük %90-100 kadar artırılabilir ⁷⁸.

2.6. Yapısal Özellikleri

2.6.1. Hücre Duvarı ve Antijenik Özellikleri

H. pylori yaklaşık 30 nm kalınlığındaki peptidoglikana sahip, periplazma ile ayrılmış iç ve dış membrandan oluşan tipik hücre duvarı olan bir gram-negatif bakteridir ⁷⁹. *H. pylori*'nin yoğun sitoplazması, nükleoid ve ribozomlar içermektedir. *H. pylori*'nin Yağ Asidi ve Lipid kompozisyonu *Campylobacter* cinsinden farklı olması bu organizmanın *Campylobacter* cinsinden ayrılmasında önemli bir role sahiptir. *H. pylori* 'nin 4 suşunun yağ asitlerinin kompozisyonu gaz-sıvı kromatografisi ile analiz edilmiştir ve Tanımlanan yağ asitleri miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit C18:1), linoleik asit (C18:2), 19-karbon siklopropan yağ asidi (C19:0cyc), β-hidroksi-palmitik asit (3-OH C16:0) ve β-hidroksistearik asit (3-OH) -

C18:0) olarak tespit edilmiştir. En çok bulunan hücresel yağ asitleri, miristik asit (%31 ila 45) ve 19 karbonlu siklopropan yağ asitleridir (%20 ila 24) . Diğer tüm yağ asitleri, toplam hücresel yağ asitlerinin %12'si veya daha az miktarlarını oluşturmaktadır. Miristik asit (%41 ila 55) ve 19-karbon siklopropan yağ asidi (%22 ila %30) saptanan başlıca fosfolipid yağ asitleriyken, β -hidroksi yağ asitleri ve doymamış yağ asitlerine hiç raslanmamıştır veya çok az miktarda tespit edilmiştir. *H. pylori*'nin toplam lipid içeriği %6 nötral lipidler, %20.6 glikolipidler ve %73.4 fosfolipidlerden oluşmaktadır. Başlıca fosfolidler fosfatidiletanolamin, kardiyolipin ve fosfatidilgliseroldir. Fosfatidilserin, minör bir fosfolipid olarak tespit edilmiştir. Ayrıca *H. pylori*'nin hücre membranında bulunan kolesterol glukozitlerinin *Helicobacteri* türüne özeldir ⁸⁰.

2.6.1.1. Peptidoglikan

H. pylori'nin peptidoglikanın analizi, yapısal olarak diğer gram-negatif bakterilerde görülenden farklı bir muropeptid yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir (78). *H. pylori*'nin peptidoglikanı yüksek oranda muropeptid içerir ve glisin ile biten ve (1-6)-anhidro-N-asetilmuramik asit içeren bir pentapeptit yan zincirine sahiptir. Ancak müreine bağlı lipoprotein, trimerik muropeptidler ve (1-d) çapraz bağlı muropeptidlerden yoksundur. Kokoid formda, (y)-glutamil-diaminopimelat endopeptidazın aktivasyonu tri- ve tetrapeptid monomerlerinin büyük ölçüde dipeptid monomerlerine dönüştürülmesine yol açmaktadır (79). *H. pylori*'nin glikan ipliklerinin kısa zincirli olduğu tespit edilmiştir (80).

2.6.1.2. Dış Membran

H. pylori in vitro şartlarda genel olarak nispeten hidrofilik ve negatif yüklü bir yüzeye sahip olduğu gösterilmiştir. *H. Pylori*'nin dış membranı, protein içeriği ve lipopolisakarit yapısı bakımından fiziksel olarak, diğer gram-negatif bakterilerle benzer olsa da *Campylobacter* de olduğu gibi iç ve dış membranın ayrılmasının zor olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni de, muhtemelen *H. pylori* genomunda tanımlanan çok sayıda lipoprotein tarafından kolaylaştırılan, iç ve dış membranlar arasındaki geniş bağlantılardan kaynaklanmaktadır ⁸¹. *H. pylori*'nin dış membranı, fosfolipidler ve lipopolisakaritlerden (LPS) oluşur.

2.6.1.2.1. Lipopolisakkaritler

LPS genellikle üç kısımdan oluşur: lipid A (veya endotoksin) olarak adlandırılan hidrofobik bir alan; nispeten korunmuş, tekrar etmeyen bir çekirdek oligosakarit; ve en dışta değişken bir polisakarit (veya O-antijen) ⁷⁹.

2.6.1.2.1.1. Lipid A

H. pylori'nin LPS'inin lipid A kısmı, diğer bakterilerden elde edilen lipid A ile karşılaştırıldığında düşük mitojenik ve pirojenik aktivitelere ve düşük öldürücü toksisiteye sahiptir ⁷⁹. Lipid A'nin moleküller hidrofilik omurgası, β -(1,6) bağlantılı D-glukozamin (GlcN) disakarit 1-fosfattan oluşmaktadır ⁸¹.

2.6.1.2.1.2. O Zinciri

H. pylori, hem konakçı Lewis sistem antijenleri ile etkileşime girer hem de LPS'sinde Lewis antijenlerini sergiler. Diğer bakterilerle karşılaştırıldığında, *H. pylori*'nin Lewis antijenlerini ekspre etmesi, immün sistemden kaçmasında ve LPS'sinin immünojenisitesinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir ^{82, 83}. *H. pylori* LPS'nin O zinciri, organizma tarafından Lewis sistem antijenlerinin gösterildiği ana konumdur ⁸⁴. *H. pylori* O antijeni tipik olarak, bağlantısına göre iki tipe ayrılan bir Gal-GlcNAc omurga zincirinden oluşur. Tip 1 zincirler, Lea, sialil-Lea ve Leb için çekirdek sakkariti oluşturan Galb1-3GlcNAc'den oluşur. Tip 2 zincirler, Lex, sialyl-Lex ve Ley için çekirdek sakkariti oluşturan Galb1-4GlcNAc veya LacNAc'den oluşur ⁸⁵. İnsanlarda, ABO kan grubu antijenleri gibi Lewis sistem antijenleri, mide mukozası ve endotelyum dahil olmak üzere sıvılarda ve dokularda eksprese edilir. Lea ve Leb yaygın olarak kırmızı kan hücrelerinden mide epitel hücrelerine kadar çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilir, özellikle Leb çeşitli patolojilerle ilişkilidir ⁸⁶. İnsan midesinde, Lea ve Leb ağırlıklı olarak yüzey ve foveolar epitelde eksprese edilirken, Lex ve Ley baskın olarak mukozada ve ayrıca mide bezlerinin chief ve parietal hücrelerinde eksprese edilir. Daha spesifik olarak, yüzey ve foveolar epiteldeki salgı yapmayan hücreler Lea'yı eksprese ederken, Leb ve Ley salgı hücrelerinde eksprese edilir ⁸⁷. *H. pylori*'nin klinik izolatları tipik olarak, terminal Lex ve Ley belirleyicileri olan dahili Lex belirleyicileri oluşturan birkaç α -L-fukoz kalıntısına sahip bir poli-LacNAc'ye sahipken, diğer suşların Lea, Leb ve sialyl-Lex'i yanı sıra A grubu, B ve H-1 belirleyicileride sergilediği gösterilmiştir ⁸³.

H. pylori'nin taze klinik izolatları, O yan zinciri, çekirdek oligosakarit ve lipid A'dan oluşan yüksek moleküler ağırlıklı düz formulu LPS (S-LPS) oluşturmaktadır. Ancak, katı ortam üzerinde pasajlanan *H. pylori* suşları, O yan zincirinden yoksun, düşük moleküler ağırlıklı kaba biçimli LPS (R-LPS) formunu göstermektedir. S-LPS üreten suşlar, sıvı ortamda kültürlendiklerinde geri dönülebilir ve R-LPS formunu gösterebilmektedir (81).

2.6.1.2.2. Dış Membran Vezikülleri (OMV)

ATP bağlayıcı kaset sisteminin aktiviteleri yoluyla periplazmada fosfolipid birikimi, hücre duvarının dış membranında vezikülasyona sebep olur ve buda (Dış membran vezikülleri/Outer Membrane Vesicles) OMV'lerin oluşumuna yol açar⁸⁸.

OMV, *H. pylori* ve diğer Gram negatif bakterilerin yüzeyinde ekprese edilen sağlam bir dış membrana sahip küçük, dairesel bir yapıdır. Periplazmik proteinler, toksinler, dış zar proteinleri (OMP'ler) ve lipidlerden oluşur. Bazen hücre dışı DNA (eDNA) içerebilirler⁸⁹⁻⁹². OMV oluşumu genellikle stres tepkileri sırasında ortaya çıkar. OMV, hücre proliferasyonu, vakuolasyon, hücre canlılığının kaybı ve proinflatuar sitokin IL-8 üretimi ile ilişkilendirilmiştir⁹³. Ayrıca bakterinin sağkalmasını, DNA transferini, antibiyotik direncini ve immün hücre apoptozunun indüklenmesini de artırdığıda bildirilmiştir^{94, 95}. *H. pylori*'nin OMV'sinin hidrojen peroksit gibi toksik bileşiklere karşı doza bağlı bir şekilde ve epitel hücreleri tarafından üretilen bakterisidal antimikrobiyal peptit LL-37'ye karşı koruma sağladığı da gösterilmiştir. Ayrıca doza bağlı bir şekilde levofloksasin ve klaritromisine karşı koruma sağlamaktadır. Genel olarak, OMV proteinleri, kodlayan genlere göre beş ayrı sınıfa ayrılır. Birinci tip, dış membran porinlerinden (Hop), Hop ile ilgili proteinlerden (Hor), tip 2 Hof'lar ve tip 3, *H. pylori* dış membran proteinlerinden (Hom)'dan oluşur. Demirle düzenlenen OMP'ler dördüncü kategoriyi oluşturur. Akış pompası OMP'leri de beşinci kategoriye aittir, Ancak diğer üyeler beş sınıfın hiçbirine tam olarak uymamaktadır⁹⁶.

2.6.1.2.2.1. Dış Membran Proteinleri (OMP)

H. pylori, en az beş gen ailesi halinde gruplandırılmış yaklaşık 64 OMP ifade eder. Aile 1, hop ve hor genlerinden oluşur. Bu genler, BabA/B/C, SabA/B ve AlpA/B gibi yapışma proteinlerini kodlar. OMP üretimi, gen rekombinasyonu veya ilgili genin

5'-ucundaki dinükleotid tekrar bölgelerinde meydana gelen kaymış iplik yanlış eşleşmesi ile düzenlenir ⁹⁷. OMP ailesinin iki geni fonksiyonu bilinmeyen OMP'leri kodlarken, beş geni ise efflux pompası proteinlerini kodlar ve bu nedenle antibiyotik direncinde hayati bir rol oynar ⁹⁸. *H. pylori*'nin virülansda katkısı bulunan ve bakterilerin, konakçık epitel hücrelerine yapışmasında önemli rolü olan birkaç OMP tanımlanmıştır ⁹⁹. Ayrıca proinflamatuvar immün yanıtın cag-patojenite ada stimülasyonunu artırabilir ve konakçı hücrede sinyalleşmeyi indükleyebilmektedir ⁹⁹.

2.6.1.2.2.2. Dış Membran Porinleri

Dış membran porin (HOP) adezyon molekülleri ailesi, konak hücre membran reseptörlerine bağlanır. Dış inflamatuvar proteinleri bu sınıf içinde en çok incelenen protein gurubudur. A (OipA), kan grubu antijen bağlayıcı adhezin (BabA), sialik asit bağlayıcı adhezin (SabA), HopQ, HopZ ve yapışma ile ilişkili lipoprotein A (AlpA) ¹⁰¹. En önemlileri, BabA ve SabA adezinleridir ^{96, 102-104}. Bu adezinler farklı genler tarafından kodlanır ve farklı konak epitel hücrelerini tanır. Yapılan bir araştırmada OipA'nın gastroduodenit ile yüksek düzeyde anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir, bu nedenle kronik gastritli hastalarda mukus ilerlemesini öngörmede büyük bir biyobelirteç olabileceğini düşünülmektedir ¹⁰⁵. BabA muhtemelen *H. pylori*'nin en iyi karakterize edilmiş adezyonudur. babA2 geni BabA'yı kodlar. Eritrositler ve mide epitelinde eksprese edilen H, Lewis b (Leb) ve fukosillenmiş ABO kan grubu antijenlerine bağlanabilir ^{103, 106}. BabA'nin epitel hücrelerine bağlanması, T4SS aracılı ile hem VacA hem de CagA'nın epitel hücrelerine verilmesini kolaylaştırır. SabA, mide epitelinde eksprese edilen Sialyl-Lewis x ve sialyl-Lewis antijenlerini tanır ¹⁰⁶. Hem BabA hem de SabA, *H. pylori*'nin mide mukozasına adezyonunu ve ardından kolonizasyonunu sağlar ¹⁰⁷. Bu adezyon proteini OipA'nın yapısı ve reseptörleri hakkında net bir bilgi olmamasına rağmen, dış membran porinlerinin (örn. OipA) rolü çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir. Bununla birlikte, oipA genlerinin ekspresyonu cagA'nın ekspresyonunu belirlediğinden, ekspresyonu ile cagA'nın aktiviteleri arasında kurulu bir ilişki vardır ^{108, 109}. OipA, interlökin-8'in (IL-8) salgılanmasını artırarak konakçıda inflamasyona ve apoptozun inhibisyonu neden olur ¹¹⁰. *H. pylori* patogeneğinde OipA mide hücre hatlarına bağlanmasında rol aldığı gösterilmiştir.

Bağlanma toksik olayların indüklenmesine yol açar ve ayrıca intrinsik yol aracılığıyla apoptotik kaskadı tetikler. Bir diğer önemli dış membran porinleri olan HopQ, muhtemelen T4SS sistemi aracılığıyla CagA tarafından sekrete edilen virülans maddelerinin konak hücreye taşınmasında rol alır^{111, 112}. Hom, IL-8'in salgılanmasını ve diğer inflamatuvar faktörlerin yanı sıra konakçı hücrelere adezyonunu artırır¹¹³.

2.6.2. Flagella

H. pylori'nin 2-6 adet, kılıflı, tek kutuplu flagellası bulunmaktadır; flagellalar yaklaşık 3 µm uzunluğundadırlar. *H. pylori*'nin flagellası çok sayıda protein alt tipinden oluşan karmaşık bir yapıdır. Her flagella üç bileşenden oluşur : bazal gövde, kanca ve filament. *H. pylori* flagellası elektron mikroskobu altında, kılıf ve terminal ampuldan oluştuğu gözlemlenmiştir. Flagella filament, FlaA (53 kilodalton, kDa) ve FlaB (54 kDa) olmak üzere iki flagellinin tekrar eden birimlerinden oluşur. *H. pylori*'nin hücre membranı benzeri flagella kılıfı, bakterini mide asidik mikroçevreden korur^{114, 115}.

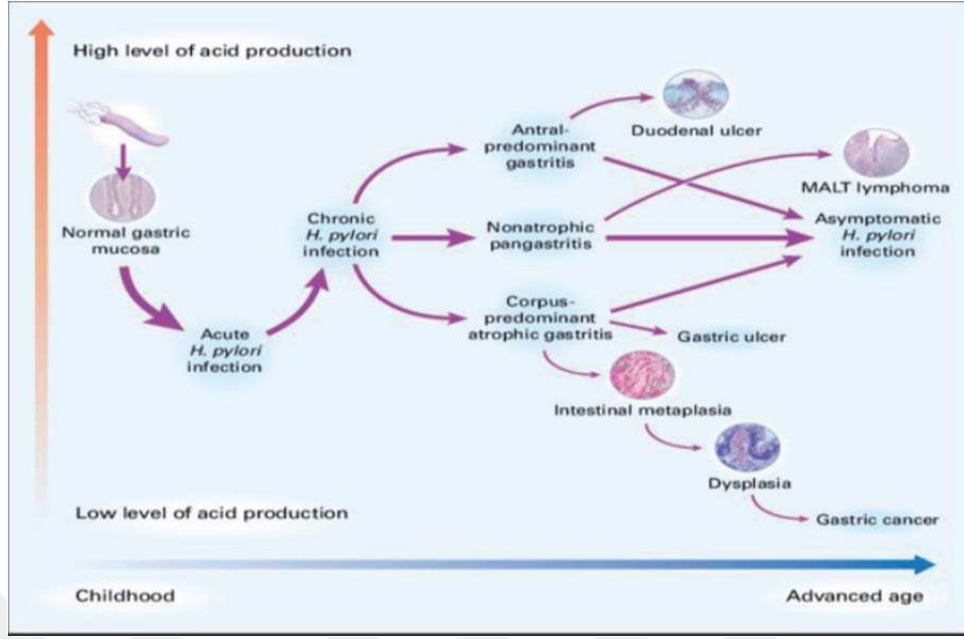
2.7. Patogenez

H. pylori enfeksiyonunun patogenezi üç adımda açıklanabilir:

(1) *H. pylori*'nin gastrik mukozaya girişi, tutunma ve kolonizasyonu; (2) Bağışıklık sisteminden kaçması, baskılaması veya istismarı; ve (3) Çoğalması, doku hasarı ve yeni bir duyarlı konakçıya bulaşma veya komşu dokulara yayılması.

Virülans faktörleri, bu süreçlerin bir veya daha fazlasında yer almasıyla tanımlanır¹¹⁶.

Normal gastrit mukozaya mikroorganizmanın kolonizasyonu sonucu enfeksiyon başlar ve düşük asit üretimi seviyesinde akut *H. pylori* enfeksiyonuna yol açabilir. Bu da, ömür boyu asemptomatik olabilen veya MALT lenfomaya yol açabilen atrofik olmayan bir pangastrit ile sonuçlanan kronik bir *H. pylori* enfeksiyonuna neden olabilir. Yüksek düzeyde asitte enfeksiyonu, antral predominant gastritten duodenal ülser dönüşmesine yol açabilir. Düşük bir asidite seviyesinde, korpus predominant atrofik gastritli hastaların %2'si, mide ülseri, bağırsak metaplazisi, displazi ve mide kanseri ile sonuçlanabilir¹¹⁷.



Şekil 2.2. *Helicobacter pylori*'nin patogenitesi ¹¹⁷

2.7.1. Bakteriye Ait Virulans Faktörleri

2.7.1.1. Fosfolipazlar

H. pylori'nin dış membran fosfolipaz A (OMPLA), özellikle stres koşullarında etkili bakteri geçirgenliği sağlayarak çeşitli lipidlerin parçalanmasında rol oynar. Ayrıca *H. pylori*, fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamini parçalayan fosfolipaz A2 (PLA2), fosfolipaz A1 (PLA1) ve ayrıca fosfolipaz C (PLC) ve fosfolipaz D (PLD) sentezler ¹¹⁸. *H. pylori* fosfolipazlarının neden olduğu mukus tabakasında meydana gelen hasarlar nedeniyle mide epitel hücreleri giderek bozulur ve fizyolojik fonksiyonlarını kaybeder. Mukozal hasar dışında, fosfolipazlar, peptik ülser oluşumunu daha da indükleyebilecek kronik inflamasyonu destekler. Bu, mide mikroçevresinde daha fazla bakteri kolonizasyonu ve hayatta kalmasını sağlar. Daha fazla miktarda fosfolipaz salgılayan *H. pylori* suşlarının, kronik gastrit ve müteakip karsinogenez riskini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir ¹¹⁹. Fosfolipazların salgılanması, araşidonik asit (prostaglandinler ve lökotrienlerin bir öncüsü) ve lizofosfolipid üretiminin uyarılmasıyla çeşitli inflamatuvar yanıtların indüklenmesiyle de ilişkilidir. *H. pylori* PLD'nin mide epitel hücrelerinde ERK1 / 2 sinyal yolunu aktive ederek daha fazla hücrel bozulmaya neden olduğunu göstermiştir ¹²⁰.

2.7.1.2. Lipopolisakkarit

H. pylori'nin dış mebranın bir komponenti olan lipopolisakkarit (LPS), *H. Pylori*'nin en önemli virölans faktörlerinden biridir ve kronik bir enfeksiyonun indüklenmesine ve ilerlemesine neden olur. LPS, çekirdek oligosakkarit, lipid-A bölgesi ve O-antijen dahil olmak üzere üç ana kısımdan oluşur; kolesterolün LPS yapısının korunmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir^{121, 122}. O-antijenin moleküler taklitten dolayı konakçı inflamatuvar yanıtlarını doğrudan indükleyebildiği gösterilmiştir. *H. pylori*'nin LPS eksprese edebilmesi için ortamda demir bulunması gerekir; demir eksikliği olan suşların önemli ölçüde daha düşük miktarda LPS ekspre ettiği tespit edilmiştir. LPS'in ara metabolitlerinden biri olan heptoz-1,7 bifosfat (HBP), insan mide epitel hücrelerinde IL-8 salınımının yanı sıra proinflamatuvar yanıtların indüklenmesinde rol oynar. Ayrıca, T4SS yoluyla LPS translokasyonu ile HBP'nin salınması, NFκB'ye bağlı inflamasyonu kolaylaştırır^{83, 123-125}.

LPS, *H. pylori* suşları arasında coğrafyaya göre, glukaneptan bağlayıcı varlığı veya yokluğu ile farklılık gösterdiği rapor edilmiştir¹²⁶. Bakterinin dış membranına gömülü olan LPS, *H. pylori* için toksik olabilecek bileşiklerden korur. Yapılan bir çalışmada LPS iki antijenik fenotipe bölünmesi önermiştir: zayıf antijenik epitop taşıyan LPS ve en yaygın olarak kronik ve şiddetli inflamasyonu olan gastrik kansarlı hastalarda eksprese edilen yüksek antijenik epitop taşıyan LPS *H. pylori* LPS'si, toksik aktivitesi diğer Gram-negatif bakteri türlerine kıyas daha zayıftır ve Toll Like Reseptör 4 (TLR4)/MD-2 tarafından tanımlanır¹²⁷.

Bazı çalışmalar, bazı *H. pylori* suşlarının TLR4 antagonistleri olarak rol oynayabileceğini göstermiştir¹²⁸. TLR4'ün yanı sıra LPS, hücrel membranda eksprese edilen TLR-2'yi aktive ederek -4, -6, -7 ve -9 claudinlerin NFκB'ye bağlı ekspresyonunu indükler ve ayrıca Th1 immün yanıtlarını artırır^{129, 130}. GC hastalarında yukarıda bahsedilen claudinlerin ekspresyonu, az klinik sonuç ve daha kısa sağkalım ile ilişkilidir. *H. pylori* enfeksiyonunda gastrik karsinogenezin LPS-TLR4 yolları yoluyla desteklenebileceği gösterilmiştir¹³¹.

LPS tip 1 (tip 2 değil) TAK1 ve TAB1'i aktive etme yeteneğine sahiptir, ayrıca gastrik pit hücrelerinde TLR4'ün uyarılması yoluyla mitojen oksidaz 1 (Mox1) ve p67-phox'un artmış ekspresyonunu indükler¹³². Ayrıca, LPS yoluyla NFκB aktivasyonu, gastrik karsinogenezin ilerlemesine önemli ölçüde katkıda bulunan (programmed death-

ligand 1) programlanmış ölüm ligand 1'in (PD-1) aşırı ekspresyonunu uyarır ¹³³. LPS, konakçı inflammatuar yanıtlarının indüklenmesine önemli ölçüde katkıda bulunan kronik *H. Pylori*'ye sebep olur, bu da kronik inflamasyon, peptik ülserler, gastrit ve daha fazla gastrik karsinogenez ile sonuçlanır. Ayrıca, LPS, oksidatif stres reaksiyonlarının başlangıcını güçlendirerek nötrofilleri aktive etme kapasitesine sahiptir ¹³⁴. Gastrik inflamasyon ve hücrel proliferasyon, LPS tarafından düzenlenen MEK1/2-ERK1/2 mitojenle aktive olan protein kinaz kaskadı tarafından uyarılabilir ¹³⁵.

LPS, sitokin salınımını daha da arttıran ve proinflammatuar sinyal yollarının aktivasyonunu arttıran bir LPS-TLR4-miyeloid diferansiyel protein-2 (MD-2) multimeri oluşturabilir. Ayrıca, TLR4-MD-2 yolu, gastrik Cancer (GC) proliferasyonunu ve göçünü önemli derecede etkiler ve tüm süreç, CXC kemokin reseptörü 7'nin (CXCR7) LPS aracılı aşırı ekspresyonu tarafından indüklenir ¹³⁶. Gastrik mikroçevre içindeki inflammatuar yanıtlar, dalak tirozin kinazın (Syk) LPS ile ilişkili protein kinaz Cδ(PKCδ) aracılı fosforilasyon, LPS'in TLR4 bağlanmasıyla sonra aktive edilen yollar, MMP-9 salgılaması ve ayrıca, PLC/PKC/PI3K aktivasyonu, artırılabilir ^{137, 138}.

LPS, monosit transendotelial göçün yanı sıra monosit inflammatuar yanıtlarının indüklenmesinde rol oynar; LPS'nin birkaç monosit fonksiyonunun ana aktive edici faktörü olabileceği gösterilmiştir ¹³⁹.

LPS, makrofajlardan IL-8 ve IL-1 salınımına aracılık ederken, IL-1b gen polimorfizmi, *H. pylori* ile indüklenen GC'nin riski ve şiddeti ile ilişkilidir ^{123, 140}. Ayrıca LPS, TNF-α, IFN-γ, IL-10, IL-12, IL-18, epitelyal nötrofil aktive edici peptit 78 (EPA-78) ve monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1) gibi diğer interlökinlerin ve bağışıklık araçlarının aşırı miktarda salınmasına aracılık eder ¹²³.

Yapılan bir çalışmada MDM2 genindeki T309G polimorfizmi, *H. pylori* enfeksiyonu ve daha fazla gastrik karsinogenez arasında bir ilişki olduğunu ve tüm sürecin LPS tarafından yoğunlaştırılabileceğini göstermiştir ¹⁴¹. LPS, inflamasyonu tetikleyerek daha fazla proinflammatuar kemokin salınımını uyaran Pellino (1 ve 2) proteinlerinin ekspresyonunu düzenler ¹⁴². LPS, kaspaz-3'ün aşırı aktivasyonu ve daha fazla proapoptotik faktörlerin salınımı yoluyla gastrik mukozal mukusun bozulmasına katkıda bulunarak müsin salgılanmasını düzensizleştirir; süreç ERK ve p38 kinaz tarafından düzenlenir ¹⁴³. LPS ayrıca aşırı miktarda pepsinojen salgılanmasına da katkıda bulunur. LPS'nin başka bir virülans mekanizması, trefoil faktör ailesi (TFF)

proteini TFF1 ile LPS etkileşimi yoluyla mide mukozasında bakteriyel adezyonu ve kolonizasyonunu uyarma kabiliyetini içerir. LPS, gastrik karsinogenezi önemli ölçüde destekleyen JAK/STAT yollarının aktivasyonunda yer alır; mekanizmalar, JAK1, JAK2 ve STAT3'ün direkt olarak LPS ile ilişkili fosforilasyon veya JAK ve STAT'in miR-375 ve miR-106b inhibisyon yoluyla indirekt olarak up regülasyonunu içerir ¹²³.

2.7.1.3. Üreaz Enzimi

Bazı geçiş metalleri, enzimatik reaksiyonlar ve bazı fizyolojik süreçlerde kofaktör olarak rol aldıkları için, organizmalar için gereklidirler ¹⁴⁴. Bakterilerde, bu metaller hayatta kalma ve başarılı enfeksiyon yapabilmeleri için çok önemlidir. Örneğin nikel, iki önemli enzim olan üreaz ve hidrojenaz için kofaktördür. Bu enzimler enfeksiyon sürecinde hayati rol oynar ^{145, 146}. Üreazın *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus* ve *H. pylori* gibi bazı türler için bir virülans faktörü olduğu gösterilmiştir ¹⁴⁷. Üreaz CO₂'den amonyağın hidrolizini katalize ederek asidik ortamın alkalileşmesine neden olur ¹⁴⁴. Hidrojenaz ise alternatif bir yolak indükleyen bir sinyal zincirine katılır ve *H. pylori*'nin metabolizması için, enerji kaynağı olarak moleküler hidrojeni kullanmasına izin verir ¹⁴⁸. Aktif bir üreaz molekülü, tam enzimatik etki sağlayabilmesi için 24 nikel iyonuna ihtiyacı vardır. Kanda belirteyici moleküller olarak bulunan nikel molekülleri, bakterinin dış membranında bulunan FecA3 ve FrpB4'ün proteinleri tarafından tanınır. Nikel molekülleri dış membrana girdikten sonra bakterinin iç sitoplazmik membranındaki protein kanalı NixA aracılığıyla sitoplazmaya taşınır. Nikelin yetersiz veya bulunamama durumunda üreaz aktive gösteremez ve sonuç olarak *H. pylori*'nin hayatta kalma ve kolonizasyon seviyesinde bir azalma gözlemlenir. Benzer şekilde, iç sitoplazmik membrana çok fazla nikel girişi oksijenik reaksiyonlara yol açması sebebiyle hücre ölümüyle sonuçlanabilir. Üreaz gen kümesi, hidroklorik asidin mideki etkisini nötralize etmek için üreaz enzimini kodlar. Bu gen seti, katalitik birimlerden (üre A/B), asit kapılı bir üre kanalından (ureI) ve aksesuar montaj proteinlerinden (üre E-H) oluşur ¹¹². Üreaz sentezi mide ortamının pH'ına bağlıdır. Urel kanalı, mide ortamı nötr pH'da (7.0) olduğunda kapanır ve mide asidik seviyesinde bir değişiklik olduğunda açılır. Mide asidik olduğunda, Urel kanalı açılır ve üreyi CO₂, amonyak (NH₃) ve karbamata hidrolize eden üreaz salgılar ve su ile reaksiyona girerek midenin alkalileşmesine neden olan kararsız bir amonyum hidroksit üretir ^{53, 149}.

Zamanla karbamat, amonyak (NH₃) ve karbonik aside ayırır ve karbonik asit CO₂ ve H₂O'ya parçalanır. Amonyak ve CO₂, pH'nın düşmesine sebep olur ¹⁵⁰. Ürenin hidrolizi sürecinde üretilen amonyum (NH₄⁺) mide bölgesinin de pH'ını düşürür. Ancak üretilen amonyum metabolize edilmezse veya hücre dışına atılmazsa zararlı olabilir. Amonyumun efflux mekanizması henüz tam olarak anlaşılamasada amonyum asimile edici enzimlerin, glutamin sentetaz (GS) ve glutamat dehidrojenazın önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir ¹⁵¹. NH₃ hücrelerin arasındaki sıkı bağlantıları bozarak, hücresel bütünlüğü bozup ve mide epiteline zarar verirken CO₂ bakteriyi nitrik oksit gibi metabolik ürünlerin bakterisidal aktivitesinden ve fagositlerin hücre içi öldürmesinden korur ¹⁴⁷.

H. pylori tarafından üretilen iki tip üreaz vardır. Birincisi sitoplazmik alanda, diğeri ise bakterinin yüzeyinde bulunur ve genellikle iç ve dış üreaz olarak sınıflandırılır. Dış kısımda bulunan üreaz köken olarak diğer bakteri hücrelerinin parçalanması sırasında üretilir ve 5.0-8.0 pH'da işlev görürken, iç üreaz 2.5-6.5 pH'ında işlevini yapar ^{123, 151}. Üreaz, konak metabolitlerini salarak bakteriyel beslenmeyi destekler ve ürenin hidrolizi sırasında proton hareket kuvvetinin oluşumunda aktiftir ¹⁵². Değişmiş opsonizasyon, nötrofillerin ve monositlerin gelişmiş kemotaksisi, sınıf II majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) reseptörlerine bağlanma nedeniyle kolaylaştırılmış apoptozu ve proinflatuar sitokinlerin artan salınımı dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla konakçı immün yanıtlarını modüle eder ¹⁵³. *H. pylori*'nin spiralden kokoid forma dönüşmesi üreaz aktivitesinde etkilidir. Spiral form, kokoid forma dönüştüğünde daha yüksek bir üreaz aktivitesi göstermektedir ¹⁵⁴. Düşük pH'da protein sentezi, üreaz ve katalaz aktivitesini sonlandırılabilir ¹²³

2.7.1.4. Flagella ve Motilite

Flagella, *H. pylori* için motilite ve kemotaksis özelliklerini sağlayan çok önemli bir faktördür. Fizyolojik olarak, *H. pylori*, 2-6 adet, kılıflı, tek kutuplu flagellaya sahiptir; flagellaların her biri yaklaşık 3 µm uzunluğundadır ve çevrelendikleri kılıflarlar sayesinde mide asidik mikroçevreden korunmaktadırlar ^{74, 155}. *H. pylori* hareketinin hızı, Flagellaların sayısı ile ilişkilidir ve türler arasında farklılık gösterebilir ¹⁵⁶. İki flagella proteini olan - FlaA ve FlaB - flagellaların filamentlerinin ana bileşenlerini oluşturur. FlaA-negatif *H. pylori* mutantlarının hiç flagella üretmediği, buna karşın

FlaB-negatif mutantların flagella üretebileceği; ancak tam olarak işlevsel olmadıkları tespit edilmiştir ¹⁵⁷. Flagellanın hareketliliği proton hareket kuvveti tarafından sağlanır ¹²³. Flagella, bakteri motilitesini sağlayan bir faktör olarak mide mukozasında daha fazla kolonizasyon sağlar; bu nedenle, özellikle bakterinin invazyosunun ilk aşamalarında *H. pylori* patojenitesi ile ilişkili en önemli virülans faktörlerinden birini oluşturur. *H. pylori*'nin daha az motilite gösteren suşları mide mukozasında kolonizasyon ile ilgili daha fazla zorluklar gösterdiği tespit edilmiştir; ayrıca bakteriyel motilite, bakteriyel enfektivite ile de ilişkilidir ¹⁵⁸. Flagellası bulunmayan *H. pylori* mutantlarının gastrik mukozaya kolonize olabilmemeleri gözlemlenmiştir, bu da motilitenin patojenite için önemli bir temel olduğu konusunda fikirleri örtaya koymuştur ¹⁵⁹. Flagella motilitesi, bakteriyel motiliteyi ve bunun mikroçevre ile olan ilişkilerini kontrol eden kemotaksis yolu adı verilen yol tarafından kontrol edilmektedir ^{160, 161}. Kolonizasyon dışında, flagella'nın *H. pylori* ile indüklenen inflamasyon ve immün invazyonda rol oynadığı inanılmaktadır; ayrıca flagella, biyofilm oluşumunda yer almaktadır. HpA, FlaA veya FlaB gibi bakteriyel flagella oluşturan birkaç flagellin, hümmoral bağışıklığı destekleyebilir ve enfeksiyondan sonra spesifik antikor yanıtlarını uyatabilmektedir. Yüksek derecede motilite özelliğine sahip olan *H. pylori* suşlarının IL-8'in sekresyonunu artırdığını göstermiştir. Flagellar sentezi düzenleyen genlerin, adezinler gibi diğer virülans faktörlerinin düzenlenmesinde de rol oynayabileceği öne sürülmüştür ^{123, 162}.

2.7.1.5. Vakuolizasyon Sitotoksin Geni (Vac A)

Vakuolasyon sitotoksin A (VacA), etki mekanizması ve patojenitesi konak hücrelerinde por oluşmasıyla hangi zaman diliminde maruz kalmasına bağlı olan farklı bir sitotoksindir. Akut maruziyet durumlarında, VacA hücrelerdeki otofaji yollarını desteklerken, kronik maruziyet durumunda, bozulmuş otofagozomların ortaya çıkmasını desteklemesinin yanı sıra, konakçı hücrelerde *H. pylori*'nin hayatta kalmasını sağlayan hücre içi vakuollerin oluşumunu indükler ¹⁶³. VacA, mide epitelinde bakteri kolonizasyonunu ve hayatta kalmasını sağlayan en önemli virülans faktörlerinden birini oluşturur; vacA geni, tüm *H. pylori* suşlarında mevcuttur. Reseptör benzeri protein tirozin fosfatazlar ve (RPTP-RPTP ve RPTP), düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein-1 (LRP-1) veya sfingomyelin, VacA'nın bağlandığı başlıca reseptör

tipleridir ^{164, 165}. Şimdiye kadar, s1, s2, m1, m2, s1m1, s1m2, s2m2 ve s2m1 dahil olmak üzere birkaç vacA genotipi tespit edilmiştir. VacA s1 genotipi, *H. pylori* ile enfekte hastalarda en bol bulunanlardan biridir ve bu genotip ile peptik ülser hastalığı arasında bir ilişki vardır ¹⁶⁶. VacA s1m1 yaygın olarak *H. pylori* ile enfekte hastalarda bulunur. kronik gastrit, *H. pylori*'nin neden olduğu mide kanserinde ise genellikle s1 ve m1 VacA genotipleri en yaygın olarak görünmektedir. VacA polimorfizminin *H. pylori* enfeksiyonunun klinik fenotipi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Otofaji ve endozomal ve lizozomal fonksiyonların bozulması dışında, VacA, apoptoz ve nekrozun yanı sıra mitokondriyal fonksiyondaki değişiklikler gibi gastrik epitel hücrelerini bozan diğer birçok süreçte yer alır ^{123, 167}. Ayrıca VacA, T hücrelerinin ve B hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ederek ve öncelikle IFN sinyalinin inhibisyonu yoluyla makrofajlarda apoptozu indükleyerek bağışıklık hücrelerini önemli ölçüde etkiler; VacA ayrıca aşırı IL-8 salınımının indüklenmesinde rol oynar. Ayrıca VacA, regulator T hücrelerinin efektör T hücrelerine farklılaşmasını uyarır, bu da *H. pylori*'nin hayatta kalmasına katkıda bulunur. Gastrik epitel hücreleri, daha sonra konakçı immün-inflamatuar yanıtlarını ve organellerin daha fazla hasar görmesini indükleyen birkaç hücresel degradatif sistemi aktive eden VacA içeren endozomlar tarafından hedeflenir. Yapılan bir çalışmada VacA ile CagA arasında bir sinerji olduğunu ve CagA'nın VacA ile indüklenen bozulmuş otofagozomlarda birikebileceğini göstermiştir ^{123, 168, 169}. Bu sinerji, VacA ve CagA'nın birbiriyle etkileşime girdiği bakteri tarafından belirli besinlerin (demir gibi) alınması durumlarında da gözlenir. VacA, CagA tarafından indüklenen hücresel elangasyonu önleyerek Erk1/2 kinaz yollarını inhibe eder ¹⁷⁰. Ayrıca VacA, CagA ve BabA arasında sinerji olduğuna dair kanıtlar vardır; bu faktörler arasındaki etkileşim, inflammatuar yanıtları önemli ölçüde kötüleştirir ve daha yüksek intestinal metaplazi insidansı ile ilişkilidir. *H. pylori* enfeksiyonu sırasında aşırı miktarda salınan amonyak gibi zayıf bazların, VacA aktivitesini artırarak hücre ölümünü önemli ölçüde uyarabildiği gösterilmiştir ^{123, 171}. CagA'ya benzer şekilde, VacA da faj ortolog genleriyle ilişkilidir ve *H. pylori* patojenitesini artırır ¹⁷². Çeşitli vacA genotipleri ayrıca GC veya peptik ülser hastalığı gibi gastrointestinal bozuklukların farklı morbidite olayları ve ayrıca hastaların klinik sonuçları ile ilişkilidir ^{123, 173}. VacA-pozitif suşlar, gastrik premalign lezyonların yanı sıra GC'nin daha yüksek prevalansı ile ilişkilidir ¹⁷⁴. Farklı vacA genotipleri, *H.*

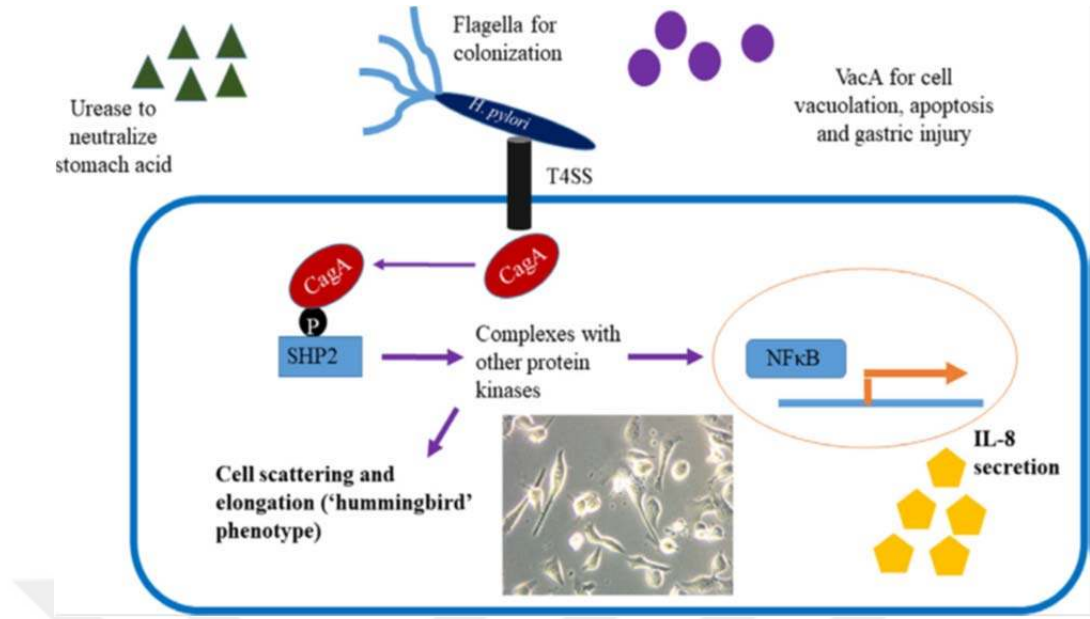
pylori'nin neden olduğu inflamasyonun şiddeti ile de ilişkili olabilir. Ayrıca, belirli *vacA* genotipleri, dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF β -1) mRNA düzeylerinin artmış ekspresyonunu indükleyebilir¹²³. *cagA*'ya benzer şekilde, *vacA* ekspresyonu Fur bağımlı bir şekilde uyarılabilir¹⁷⁵. Yapılan bir çalışmada *vacA* polimorfizminin histolojik GC tipi ile korele olabileceğini göstermiştir; bu özellik *cagA* durumunda geçerli değildir^{123, 176}. *vacA* s1 suşlarının, *vacA* s2 suşlarına kıyasla eradike edilmesinin çok daha kolay olduğu kanıtlanmıştır¹⁷¹. Ancak *VacA*, eradikasyon tedavisinden sonra bile *H. pylori*'nin gastrik ortamda hayatta kalmasını sağlayan hücre içi rezervuarların oluşumunda rol oynar¹⁷⁷.

2.7.1.6. Sitotoksin İle İlişkili Geni (Cag A)

Sitotoksin ile ilişkili gen (*CagA*), *H. pylori*'nin en çok çalışılan önemli virülans genlerinden biridir. *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine yapışması, *cagA* ekspresyonunu indükler. *CagA*'yı kodlayan genler ~ 40 kb *cag*-patojenite adasında (*cagPAI*) bulunur. *CagPAI*, *CagA* ve tip (IV) sekresyon sistemini (T4SS) oluşturan yaklaşık 31 geni kodlar. Bilinen yedi farklı sekresyon sistemi vardır (I-VII). Tip III ve IV sistemler, plazma membranının penetrasyonuna ve bakteri moleküllerinin doğrudan hedef hücrelerin sitoplazmasına iletilmesine izin verir. Tip III sekresyon sistemi (T3SS), efektör proteinleri ökaryotik konak hücrelere yer değiştirmek için kamçı benzeri bir tüp kullanır. Ancak, tip IV sekresyon sistemi (T4SS), DNA veya proteinlerin hedef hücrelere verilmesine aracılık etmek için pilus tabanlı bir yapı kullanır. Hücrede, hücre motilitesini, proliferasyonu ve apoptozu bozan hücresel değişiklikleri indükler ve hücre iskeletinin düzenini değiştirir. Temel olarak, tip (IV) sekresyon sistemi (T4SS), *CagA* proteinlerinin gastrik mukozal yüzeyden endotel hücrelerine tirozin fosforilasyonu ve ardından immün yanıtın indüklenmesi için taşınmasına yardımcı olur. *H. pylori* *cagT4SS*'nin, *CagA*'yı gastrik epitelyal hücrelere aktarmak için bakteriyel HopQ adhezin ve CEACAM (hücrel bir yapışma molekülü) arasındaki spesifik etkileşimi kullandığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada bu etkileşimin insan ve fare PMN'lerinde insan CEACAM (hCEACAM/ CEACAM-humanized) kullanarak incelemişler. Araştırmanın sonucu, *H. pylori* HopQ'ya bağlı etkileşimin *CagA*'nın yer değiştirmesini ve fosforilasyonunu büyük ölçüde kolaylaştırdığını göstermiştir ve PMN'ler, proinflamatuvar kemokinler MIP-1-alfa'nın ekspresyonunu büyük ölçüde arttırdığı

gösterilmiştir. Ayrıca, kronik fare modeli enfeksiyonu, nötrofiller üzerinde hCEACAM ve -6 reseptörlerinin down regüle ettiğini göstermiştir. Buda, *H. pylori*'nin mide patolojisi ilerlemesinde konakçı immün yanıtını kontrol etmek için kullandığı olası taktiklere işaret etmektedir^{112, 123}

H. pylori'nin efektör proteini (CagA) konakçı hücreye ulaştığında, tirozin fosforilasyonunun meydana geldiği çeşitli konakçı SH2 alanı ile etkileşime girerler. *H. pylori* fosforilasyon bölgesi, Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) dizi tekrarından (EPIYA motifi) veya diğer benzer dizilerden oluşur ve N-terminal bölgesinde ve C-terminal kuyruğunda bulunur. EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C ve EPIYA-D motiflerinin bileşimine göre *H. pylori* CagA-AB, CagA-ABC, CagA-ABD veya CagA-BD olarak isimlendirilir. Diğer virülans genlerine benzer şekilde, cagA genleri de EPIYA segmentlerinde değişiklik gösterir (EPIYA-A'dan EPIYA-D'ye). Konak SH2 alanının bu farklı EPIYA segmentine bağlanması da değişir. D segmenti, C segmentinden daha fazla afiniteye sahiptir. Tirozin fosforilasyonu sırasında, C veya D segmenti, tirozin fosfataz SHP2 içeren SH2 alanı için spesifik bağlanma yeri olarak görev alır, Erk MAP kinaz sinyalleşmesinin deregelasyonuna yol açır. Buna karşılık, Src kinazı, sırayla SFK aktivitesini inhibe eden A ve B segmentine bağlanır. *H. pylori* enfeksiyonu sırasında salgılanan interlökin miktarları, C-terminal Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) motiflerinin sayısı ve varisyonlarıyla yüksek oranda ilişkilidir. Daha sonra CagA fosforilasyonu, gastrik epitel hücrelerinin uzaması için csk, SHP-2, Rac-1 GTP, PI3-K, cortactin ve vinculin gibi diğer protein kinazlarla bir kompleks oluşturur. Hücre sinyalleşme bozukluğu NFκB'nin aktivasyonu takip eder ve IL-8'in salgılanmasına yol açar. EPIYA-D motifli *H. pylori* suşları, diğer varyasyonlara kıyasla daha yüksek miktarlarda IL-8 salgımasına neden olur. *H. pylori* suşları genellikle iki alt sınıfa ayrılır (sitotoksin ile ilişkili gen A (cagA)-pozitif ve cagA-negatif). Tüm *H. pylori* suşları cagA'ya sahip olmakla birlikte, bazıları cagA pozitif, bazı suşlar ise cagA negatiftir^{112, 178, 179}. CagA'nın patogenezi, fosforilasyon olmayan mekanizmalarla da meydana gelir. Gastrik epitel hücrelerine enjekte edildikten sonra, CRPIA olarak bilinen korunmuş CagA motifleri Met ile etkileşime girer, ardından PI3-K/Akt ile etkileşime girerek IL-8 salgılanması için b-katenin ve NFκB'nin aktivasyonuna yol açar¹⁸⁰.



Şekil 2.3. Mide karsinogenezinde *Helicobacter pylori* virülans faktörlerinin patojenitesinin özeti ¹⁷⁹

Çalışmalar, *cagA* taşıyıcılığının, peptik ülser ve mide kanseri gibi virülans ve ciddi gastrointestinal hastalık formları ile ilişkili olduğunu göstermektedir^{170, 181}. Benzer şekilde, *cagA*-pozitif suşlar, *cagA*-negatif'den daha hareketlidirler. *cagA*, *cag I* ve *cag II* olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Genel olarak CagA, tıpkı vakuolatör sitotoksin (VacA) gibi sitotoksik ve immünomodülatör aktiviteler sergiler. Bununla birlikte, *cagA*'nın ekspresyon seviyesi, *H. pylori* suşları arasında farklılık gösterir. Yapılan bir çalışmada *cagL*'de Y58/E59 polimorfizmine sahip *H. pylori* suşunun mide kanserinin riskini artırdığını göstermiştir. Bu kanıt, *cagPAI*'de bulunan genlerdeki mutasyonların virülansı etkileyebileceğini göstermektedir. CagA proteini ayrıca mide epitel hücrelerinde tümör baskılayıcı mekanizmalarını değiştirebilir¹¹².

2.7.1.7. Blood Group Antigen-Binding Adhesin (BabA Geni)

Kan grubu antijen bağlayıcı adezin (BabA), *H. pylori*'nin mide epiteline yapışmasını ve toksinlerin (CagA veya VacA gibi) veya diğer virülans faktörlerinin konakçı hücrelere aktarılmasını sağlayan bir virülans faktörüdür, inflamatuvar veya bağışıklık tepkileri yoluyla konakçı dokularında direkt veya indirekt olarak hasara yol açar. Mide biyopsi örneklerinde BabA ekspresyonunun, *H. pylori* enfeksiyonu için bir biyobelirteç oluşturabileceği öne sürülmüştür¹⁸². *babA* geninin ekspresyonu, özellikle *H. pylori* suşlarında *cagA*'nın varlığı ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır; aynı zamanda

belirli suşların yaygın olup olmadığı belirli coğrafi bölgesine de bağlıdır. Ayrıca, babA, cagA ve vacA'nın birlikte ekspresyonu, diğer gastrointestinal bozuklukların yanı sıra paraneoplastik gastrik lezyonların başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir. BabA, CagA ve VacA, sinerjik etki gösterir ve gastritli kişilerin klinik bulgularının şiddetlenmesine sebep olur. Bakteriyel tutunma ve kolonizasyon dışında, BabA, granülosit infiltrasyonu veya IL-8 salınımını arttıran gastrik enflamasyon gibi çeşitli bağışıklık yanıtlarını uyarır. BabA'nın *H. pylori* suşları tarafından ekspresyonu, peptik ülser hastalığı veya GC gibi çeşitli gastrointestinal hastalıkların başlangıcı, ilerlemesi, şiddeti ve klinik sonucu ile önemli ölçüde ilişkilidir^{123, 183-185}. BabA ekspresyonu ayrıca daha çok mukozal inflamasyon ile ilişkilidir.

BabA, mide epitelinde eksprese edilen H-tipi 1 ve ABO/Lewis b (Le^b) kan grubu antijenlerine bağlanarak TSS4 aktivitesini kolaylaştırır ve karsinogenezi uyaran aşırı miktarda proinflamatuvar faktörü serbest bırakır. Ayrıca *H. pylori*'nin mide epitelindeki MUC5AC mucusuna bağlanması da BabA'ya bağımlıdır^{123, 186, 187}. Spesifik olarak BabA, bir Galβ1-3GlcNAc çekirdeğine bağlı bir α1,2 bağlantısına sahip bir terminal fukoz molekülü içeren lakto glikan serisine bağlanır. Buna H1 kan grubu antijenlerinin yanı sıra diğer H neoglikokonjugatları ve Leb'de dahildir. Ancak, BabA, H neoglikokonjugatlarına kıyas Leb'e, iki kata kadar artışlı olan bir afiniteyle bağlanır¹⁸⁸. BabA ile uyarılması artan TSS4 aktivitesi, daha şiddetli inflamasyon, intestinal metaplazi gelişimi ve malign transformasyonlar ile ilişkilidir. BabA, semptomatik hastalardan (GC veya duodenal ülser hastalığı olan) elde edilen *H. pylori* suşlarında saptanır. BabA, hem ağız boşluğunun mukozası hem de mide mukozası reseptörlerine bağlanma yeteneğine sahiptir. BabA ekspresyonu ile gastrik antrumdaki gastrit şiddeti arasında, bir ilişki olduğu gösterilmiştir¹²³. Yapılan bir çalışmada düşük BabA ekspresyonuna ve Leb'e bağlanma kapasitesinin azalmasına sahip *H. pylori* suşlarının mide mukusundan ayrılabilceğini ve duodenumda ülser oluşumunu uyarak peptik ülser hastalığı riskini artırdığını göstermiştir¹⁸⁹.

Ayrıca, düşük BabA seviyelerinin, yüksek BabA ekspresyonuna sahip suşlara kıyasla, daha ciddi bir şekilde kronik gastrointestinal hastalıkları indüklediği düşünülmektedir. BabA eksprese eden *H. pylori* suşları, mide mukozasında histolojik değişiklikleri indükleyebilir ve inflamatuvar mediatörlerin infiltrasyonunu uyabilir; kolonizasyon özellikleri açısından BabA-pozitif ve -negatif suşlar arasında fark yoktur

¹⁹⁰. BabA ve cagA genlerinin birlikte ekspresyonu ve ayrıca bakteriyel kokoid formu, gastritin şiddetini önemli ölçüde etkilemektedir ¹⁹¹. Ayrıca BabA ekspresyonu, CagA-negatif suşlara kıyasla CagA-pozitif *H. pylori* suşlarında daha yaygındır ¹⁹². BabA, sialik asit bağlayıcı adezin (SabA) ile birlikte *H. pylori*'nin spazmolitik polipeptit eksprese eden metaplazi (SPEM) bezlerine bağlanmasını sağlayarak karsinogenezin başlamasına katkıda bulunan metaplastik değişiklikleri destekler ¹⁹³.

2.7.1.8. Sialic Acid-Binding Adhesin (Sab A Geni)

Sialik asit bağlayıcı adhezin (SabA), Lex antijenlerine bağlanarak *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine yapışmasını kolaylaştıran, dış membran protein (OMP) ailesine ait bir adezyon molekülüdür. SabA *H. pylori* suşlarının yaklaşık %40'ında bulunduğu tahmin edilmektedir ¹²³. Daha spesifik olarak, SabA, sialil-Lex gibi sialillenmiş molekülleri ve Neu5Aca3-neolaktoheksaosilseramid ve Neu5Aca3-neolaktoheksaosilseramid molekülleri ile karakterize edilen bazı gangliosidleri bağlar ¹⁹⁴. *H. pylori* enfeksiyonunun neden olduğu gastrit, mide mukozasındaki glikosilasyon paternlerindeki değişiklikleri için gereklidir, sialil-Lex'in yanı sıra sialil-Lea'nın ekspresyonunu destekler ve bu da SabA'nın adezyon özelliklerini artırır ¹⁹⁵.

SabA aracılığıyla adezyon, T4SS ve TNF ile yönetilen dinamik bir süreçtir. Aslında, sağlıklı gastrik mukozada sLex antijenleri bulunmamaktadır. *H. pylori* adezyon için, sLex antijenini nasıl kullandığı önceden belirsizdi ancak daha sonra T4SS ve TNF'nin sLex ekspresyonunu indüklediği öne sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada cag PAI-pozitif *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerinde 3 GlcNAcT5 (3GnT5) ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir. 3GnT5 bir glikosiltransferazdır ve Lewis antijenlerinin biyosentezi için gereklidir. Ayrıca, 3GnT5'in uyarılması TNF'ye bağlıdır, ancak IL-8'e bağlı değildir. *H. pylori*'nin SabA ile bağlanma kapasitesi ile ilgili olarak, 3GnT5 ekspresyonunun, SabA-pozitif *H. pylori* suşları için hücre yapışma oranlarını artırdığı gösterilmiştir ¹⁹⁶. Ek olarak, *H. pylori*'deki aside duyarlı sinyalleme, SabA transkripsiyonunu düzenler ¹⁹⁷. BabA'ya benzer şekilde, SabA'nın ekspresyonu oldukça değişkendir ve genellikle faz varyasyonuna tabidir. *H. pylori*'nin, SabA ekspresyonunu modüle etmek için birden fazla araca sahip olabileceği öne sürülmüştür, böyle bir yöntem, aside duyarlı ArsRS iki bileşenli sinyal iletim sistemi ve çeşitli *H. pylori* alt

popölasyonlarında kromozomal replikasyon sırasında SabA alellerinin kaymış-iplikli yanlış eşleşmesini içeren bir alternatiftir ¹⁹⁷.

Ek olarak, SabA, değışen çevresel baskılardan dolayı yaygın olarak homolog rekombinasyona ve gen dönüşümüne tabidir ¹⁹⁸. Nötrofiller tarafından sitotoksik aktivite kısmen SabA'nın gangliosidlere bağlanması tarafından tetiklendiğinden, SabA kodlayan genin deaktivasyonu ayrıca bakteriyel kaçışa yardımcı olabilir. Nötrofil etkisinin SabA'dan yoksun *H. pylori* suşlarına karşı yetersiz olduğu gösterilmiştir ¹⁹⁴.

2.7.1.9. Outer Inflammatory Protein A (OipA Geni)

HopH geni tarafından kodlanan dış inflamatuvar protein A (OipA), OMP ailesine aittir ve bir *H. pylori* virölans faktörü olarak, bakteriyel adezyon, kolonizasyon, indüksiyon ve gastrointestinal bozuklukların ilerlemesi ile don derece ilişkilidir, ve enfekte hastaların klinik sonuçlarını etkileyebilir ¹⁹⁹. OipA-pozitif *H. pylori* suşları, OipA-negatif suşlara kıyasla mide mukozasında çok daha şiddetli inflamasyonu indüklemeye yatkın olduğu görülmüştür. OipA'nın gastrik epitel hücrelerine bağlanması, konakçı hücrelerdeki apoptotik kaskadı öncelikle Bcl-2 ailesi yolu ve artan Bax ve hücre içi bölünmüş kaspaz 3 seviyeleri yoluyla aktive eder ²⁰⁰. OipA varlığının neden olduğu hasar, genellikle GC başlangıcı veya peptik ve ayrıca duodenal ülser hastalığı riski ile ilişkilidir ayrıca, enfeksiyon süresine ve *H. pylori* dozuna bağlıdır ^{201, 202}. CagA ve VacA sentezinin OipA ekspresyonu tarafından düzenlendiğine inanılmaktadır ¹¹⁰. OipA, gastrit öncesi lezyonları olan hastalardan alınan mide biyopsi örneklerinde tek başına gastritli hastalara göre daha yaygın olarak saptanır.

OipA, IL-1, IL-6, IL-8, IL-11 IL-17, matris metalloproteinaz 1 (MMP-1), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) veya RANTES gibi çok sayıda proinflamatuvar sitokinin salgılanmasını destekler. OipA'nın β -katenin düzeylerini düzenleyebileceği bildirilmiştir. OipA, hücre yüzeyinde CD40, CD86 ve MHC-II ekspresyonunu ve ayrıca IL-10 salınımını aşağı regüle ederek dendritik hücrelerin olgunlaşmasını bastırır. OipA geni, cagA ve vacA ile birlikte eksprese eden *H. pylori* suşlarının virölans faktörleri arasında sinerjistik etki yaptığı ortaya atılmıştır. OipA, CagA'nın konak mide epitel hücrelerine translokasyonunda rol oynar; buda, CagA-pozitif *H. pylori* suşlarının neden genellikle yüksek miktarlarda Oipa eksprese ettiğinin bir açıklaması olabilir ^{109, 123, 203,}

²⁰⁴.

OipA, miR-30b/xCT yolunu etkileyen miR-30b düzeylerini önemli ölçüde artırır ve *H. pylori*'nin neden olduğu hasarı uyaran glutamat düzeylerinde daha çok azalma olur²⁰⁵.

2.7.1.10. Induced by contact with epithelium Gene A (IceA Geni)

Epitel geni A (IceA) ile temas yoluyla indüklenen, *H. pylori*'nin yakın zamanda keşfedilmiş bir virülans faktörüdür ve hala tam olarak tanımlanmamıştır. *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine bağlanması sırasında IceA seviyeleri önemli ölçüde artar. IceA'nın iki ana alelik varyantı vardır: IceA1 ve IceA2. *H. pylori* sadece tek bir iceA lokusuna sahip olduğundan dolayı, IceA1 veya IceA2 eksprese edilebilir ve her ikisinin varlığı, birkaç farklı *H. pylori* suşu tarafından enfeksiyonun gerçekleşmesinin göstergesidir.

Yapılan bazı çalışmalar, IceA ekspresyonu ile CagA veya VacA gibi diğer virülans faktörlerinin varlığı arasında bir ilişki olmadığını östermiştir; ancak bu veriler tam terside mevcuttur ve buyuzden oldukça çelişkilidir, bu nedenle bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır²⁰⁶⁻²⁰⁸. CagA veya VacA gibi diğer majör virülans faktörlerine benzer şekilde IceA ekspresyonunun, enfekte hastalarda daha kötü klinik sonuçlara yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca, IceA durumu belirli coğrafi bölgelere bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir²⁰⁹. *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine bağlanması sırasında IceA ekspresyonu artar ve peptik ülser hastalığının gelişimi ile ilişkili olabilir^{206, 209, 210}. IceA1 suşları, GC progresyonunun bir belirteci veya bu malignitenin gelişimiyle ilgili risk faktörü olarak kabul edilebilecek oksidatif DNA hasarını indüklemeye daha yatkındır. Aksine, IceA2 ekspresyonu daha sıklıkla peptik olmayan ülser dispepsisi ile ilişkilidir¹²³. IceA1-pozitif suşlar, IceA1-negatif suşlarda gözlenmeyen önemli miktarlarda proinflatuar IL-8 üretebilir^{211, 212}

IceA1 ekspresyonu *H. pylori* suşları arasında daha yaygın olmasına rağmen, IceA2 varlığı daha çok granülositik ve lenfositik infiltrasyon ve ayrıca atrofik gastrit ile ilişkilidir²¹³. Her iki alelik varyant, gastrit, mide ülseri, fonksiyonel dispepsi, akut antral inflamasyon ve GC'nin gelişimini kolaylaştırabilir. Ayrıca, IceA-2-pozitif suşlar tarafından enfeksiyon, mide mukozasında kanser öncesi lezyonların başlangıcı ve ilerlemesi için daha büyük bir risk ile bağlantılı olan pro-inflatuar IL-1 polimorfizmlerini uyarır. Aynı anda IceA, CagA ve VacA s1/m1 eksprese eden suşların

gastrik inflamasyonun şiddetini artırması muhtemeldir ²¹⁴. IceA, *H. pylori* tarafından indüklenen gastrointestinal patolojinin şiddetinde potansiyel bir biyolojik belirteci olarak kabul edilmektedir ¹²³.

2.7.1.11. *Helicobacter pylori* Outer Membrane Protein Q (HopQ)

H. pylori dış membran proteini Q (HopQ), gastrik asidik mikroçevrede bakteriyel sağkalımının yanı sıra mide epitel hücrelerine adezyon, kolonizasyon ve gastrointestinal rahatsızlıkların daha da ilerlemesi ile ilgili bir virülans faktörüdür. *H. pylori* ile enfekte kişilerde ekspresyonu, GC başlangıcını ve ilerlemesini etkileyebileceği iki ana HopQ türü ayırt edilebilir: tip 1 ve 2. Genel olarak, HopQ tip 1, aynı zamanda cagPAI'ye de sahip olan *H. pylori* suşlarının çoğunda mevcuttur. HopQ'nun genotip çeşitliliği, *H. pylori* kaynaklı gastrointestinal patolojilerin farklı şiddeti ile ilişkilidir; tip 1 HopQ daha çok CagA ve s1-VacA-pozitif suşlarında bulunur ve peptik ülser hastalığı riskini artırır. Ayrıca HopQ tip 1, proinflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu kolaylaştırır ve gastrik mukozal atrofiyi artırır. HopQ tip 2 genotipi, CagA-negatif s2-VacA-pozitif suşlarda oldukça daha yaygındır. HopQ ekspresyonu belirli coğrafi alanına ve etnik farklılıklarına bağlıdır ve hastaların farklı klinik sonuçlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. HopQ tip 2 daha çok ülser olmayan dispepsi (NUD) ve (mild severe gastrit) hafif şiddetli gastrit ile ilişkilidir, oysa hem tip 1 hem de tip 2 allellerinin varlığı NUD riskini önemli derecede atırmaktadır. Genellikle, HopQ tip 2 suşları, peptik ülser hastalığı ile ilişkili değildir. HopQ ve CagA'nın birlikte ekspresyonu arasındaki sinerji, HopQ, T4SS aktivitesini önemli ölçüde kolaylaştırdığından, NF-κB veya mitojenle aktive olan protein kinazlarla (MAP kinazlar) T4SS yoluyla ilişkili olanlar dahil olmak üzere birkaç proinflamatuvar yolun kolaylaştırılmış bir aktivitesi olarak kabul edilir ^{123, 215-217}. HopQ tarafından indüklenen T4SS ve CagA translokasyonu ve/veya fosforilasyon ile etkileşim, karsinoembriyonik antijenle ilişkili hücre yapışma molekülleri (CEACAM) proteinlerini (öncelikle CEACAM1, CEACAM3, CEACAM5 ve CEACAM6), NF-κB aktivasyonunu destekleyen mide epitel hücrelerinde eksprese edilir. Sonuç olarak bu, mide ülserlerinin gelişimini indükleyebilir ve mide karsinogenezini kolaylaştırabilir. HopQ ile indüklenen CagA translokasyonu, önemli bir *H. pylori* tiyoloksidoredüktaz olan HP0231 tarafından kolaylaştırılır. HopQ–CEACAM etkileşimleri, nötrofillerde *H. pylori*'nin hayatta

kalması için de çok önemlidir. Ayrıca, HopQ'nun CEACAM1'e bağlanması, doğal öldürücü ve T hücre fonksiyonlarını inhibe eder; bu tür etkileşimler, tümörijenizin erken evrelerinde gözlenir. HopQ eksikliği olan suşlar, konakçı hücrelerde proinflatuar yanıtları indüklemeye kabiliyetinin azalmasının yanı sıra CagA translokasyonunda başarısız olur^{123, 218-221}. HopQ-CEACAM etkileşimlerinin, *H. pylori* ile ilgili gastrointestinal patolojilerin önlenmesi ve tedavisinde potansiyel terapötik hedefler olduğu düşünülmektedir¹²³.

2.7.1.12. Duodenal Ulcer Promoting Gene A (DupA)

Duodenal ülseri destekleyen gen A (DupA), duodenal ülserlerin yanı sıra gastrit riskinin indüklenmesiyle ilişkili *H. pylori* virülans faktörüdür; Ancak, DupA ekspresyonu, GC riski ile ilişkisi bulunmamaktadır^{222, 223}. Üstelik DupA, mide karsinogenezini önleyen koruyucu bir faktör olarak bile kabul edilir²²⁴. Her ne kadar yapılan bir çalışmada uzun-tip dupA suşlarının önceden indüklenmiş gastrit yoluyla GC'ye katkıda bulunabileceğini göstermiştir²²⁵. İlginç bir şekilde, belirli DupA pozitif *H. pylori* suşları her zaman duodenum ülseri riskini artırmaz²²⁶. DupA ekspresyonu ile CagA veya VacA gibi diğer virülans faktörlerinin varlığı arasında bir ilişki yoktur. DupA, mide epitel hücrelerine bakterinin kolonizasyonunu ve ayrıca konakçı hücrelere toksin verilmesini tetiklemez; Ayrıca dupA geninin T4SS oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir²²⁷. *H. pylori* suşlarında DupA ekspresyonunun prevalansının %45 olduğu tahmin edilmektedir ve coğrafi bölgeye ve araştırılan etnik gruplara bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir. komple bir dupA dizisi, daha çok enflamatuar hücrelerin infiltrasyonunu sağlar ve genellikle eksik bir dupA dizisine sahip suşlara kıyasla daha çok virülans ile ilişkilidir. DupA, gastrit indüksiyonuna katkıda bulunan başlıca antrumda üreaz ve IL-8 salgılanmasını uyarır; DupA tarafından proinflatuar sitokin salınımının uyarılması da, duodenum ülseri riskini artırır^{123, 228-230}. Ayrıca DupA, antral mukozadaki inflamasyonu kolaylaştırır ve korpus atrofisini azaltır²³¹. IL-8 salgılanması dışında, DupA, monositlerden IL-12 (IL-12p40 ve IL12-p70) üretimini ve salgılanmasını tetikler^{232, 233}. Diğer *H. pylori* virülans faktörlerinin aksine, DupA, GC hücrelerinin proliferasyonunu ve büyümesini inhibe ederek, aslında mitokondri aracılı apoptotik yolun aşırı aktivasyonu ve ayrıca DupA-pozitif suşların asidik gastrik mikro-ortama yüksek toleransı yoluyla daha fazla karsinogenezi önler¹²³. DupA pozitif

suşlar tarafından enfeksiyon, *H. pylori* ile ilişkili gastrointestinal patolojilerin şiddetini azaltabilir ve hastalarda daha iyi klinik sonuçlar sağlayabilir. Ayrıca, DupA, DupA ile enfekte hastalarda daha yüksek serum gastrin seviyelerinin varlığı ile gösterilen gastrik asit salgısını uyarır ¹²³.

2.7.1.13. Adherence-Associated Lipoprotein A and B (AlpA/AlpB)

Yapışma ile ilişkili lipoprotein A ve B (AlpA/AlpB), *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine adezyonunda ve bakteri kolonizasyonunun daha fazla uyarılmasında rol oynayan proteinlerden biridir ²³⁴⁻²³⁶. AlpA/B eksikliği olan *H. pylori* mutantları, yüksek düzeyde AlpA/B eksprese eden suşlarla karşılaştırıldığında, gastrik epitel hücrelerine bağlanma kapasitesinde önemli ölçüde azalma gösterir ²³⁷. AlpA/B ne kendi başına toksik aktivite gösterir ne de insan doku antijenleri ile çapraz reaksiyona girer ²³⁸. AlpA/B göre farklı *H. pylori* suşlarından, coğrafi yerleştirminden bağımsız olarak izole edilebilir. AlpA/B ayrıca IL-6 ve IL-8 dahil olmak üzere çeşitli sitokinlerin ve proinflamatuvar faktörlerin salınımını düzenleyebilir ve ERK, c-Fos ve CREB yollarının aktivasyonunda rol oynayabilir; AlpA/B genotiplerinden bazıları JNK ve NF-κB yollarını da etkileyebilir. AlpB'nin bakteriyel biyofilm oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir. AlpA/B, *H. pylori*'nin adezyonunu destekleyebilse de, AlpA/B ekspresyonunun olmaması, artmış inflamatuvar yanıtlara ve daha şiddetli inflamasyona neden olur ¹²³.

2.7.1.14. LacdiNAc-Specific Adhesin (LabA)

LacdiNAc-spesifik adhezin (LabA), *H. pylori*'nin LacdiNAc (N, N1-diasetillaktosdiamin/ GalNAc4GlcNAc, LDN) determinantının tanınması yoluyla mide epitel hücrelerine bağlanmasını kolaylaştıran bir adezyon molekülüdür. LabA şu ana kadar çok iyi tanımlanmamıştır ve *H. pylori* aracılı patojenite ile ilişkisini değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılmalıdır ¹²³.

2.7.1.15. Helicobacter pylori Outer Membrane Protein Z (HopZ)

H. pylori dış membran proteini Z (HopZ), diğer OMP'lere kıyasla patojenitenin henüz net olarak tanımlanmadığı OMP ailesinin bir başka üyesidir. HopZ iki türe ayrılır: HopZ1 ve HopZ2 ²³⁹. HopZ, mide epitel hücrelerine bakteri adezyonunu

kolaylaştırır ve mide mukozasında *H. pylori* kolonizasyonunu uyarır; bununla birlikte, HopZ bağlanması tam yeri hala bilinmemektedir. HopZ patojenitesi, *H. pylori* enfeksiyonunun erken evrelerinde önemli bir faktör olarak kabul edilir; HopZ gastrik asit sekresyonunu bozar ve geçici hipoklorhidride rol alır²⁴⁰.

2.7.1.16. Katalaz

Katalaz, hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya (H_2O) ve moleküler oksijene (O_2) dönüştüren bir enzimdir ve bitki ve hayvan hücrelerinde en bol bulunan proteinlerden biridir. Üç katalaz türü bulunmaktadır : “klasik” katalaz, katalaz-peroksidaz ve manganaz.

Katalaz, inflamasyon, apoptoz önlemede ve ayrıca çok sayıda tümörle sonuçlanan mutajenez indüksiyonu gibi sayısız patolojik süreçte yer alır. Katalaz, aktivitesini sitoplazma ve periplazmada gösterir; aynı zamanda yüzeysel olarak da bulunabilmektedir²⁴¹. *H. Pylori*'de Katalazın seviyesi toplam protein içeriğinin %4–5'i olarak tahmin edilmektedir ve gastrik mukozadan elde edilen *H. pylori* suşlarında en yüksek oranda eksprese edilen proteinlerden biridir^{242, 243}. *H. pylori*'de bulunan katalaz, diğer türlerin katalazına kıyasla siyanür veya aminotriazol tarafından inhibisyona daha dirençlidir²⁴⁴. Katalazın oksidanlardan ve oksidatif strese bakteriyel korumada yer aldığı gösterilmiştir, bu da enfeksiyon sırasında heterojen etki yollarını düşündürür²⁴⁵. Ayrıca, yapılan bir çalışmada katalazın, *H. pylori*'nin kompleman aracılı öldürmeden korunmasında rol oynayabileceğini ve bu sürecin, kompleman sistemini düzenleyen vitronektin (Vn) ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir²⁴⁶. Ayrıca, Vn bağlayıcı bir protein olarak katalazın, enfekte olmuş bir bireyin bağışıklığından kaçışını artırabileceğini gösterdi. Katalaz aktivitesi, fagositlerin hücre yüzeyinde bakterilerin sağkalabilmesinde çok önemlidir²⁴⁷. Katalaz ayrıca makrofaj fagozomları içinde, *H. pylori*'nin hayatta kalmasını artırır²⁴⁸.

Bir hayvan modeli, katalaz içermeyen farelerin gastrik mukozada kolonize etme yeteneğinin önemli ölçüde azaldığını gösterdi, bu da *H. pylori* kolonizasyonunda katalazın rolü olduğunu düşündürüyor²⁴⁹. *H. pylori* katalaz, bakteriyi toksik uzun zincirli yağ asitleri ve metabolitlerinden koruduğu gibi, *H. pylori*'nin fagositozdan korunmasını sağlar; katalaz ayrıca immün yanıtların modülasyonunda da rol oynar²⁵⁰⁻²⁵². *H. pylori*'nin katalaz aktivitesi, Fur proteini ve demir konsantrasyonları tarafından

kontrol edilir; fur eksikliği olan ve düşük demir konsantrasyonlu bir ortamda *H. pylori* suşlarının, önemli ölçüde azaltılmış katalaz aktivitesi sergilediği gösterilmiştir ²⁵³. *H. pylori* katalazını kodlayan pcDNA3.1 içeren bir aşının, mide mukozasında indüklenen bakteriyel kolonizasyonu ve enflamatuvar tepkileri baskıladığı gösterilmiştir; ayrıca, hümmoral bağışıklık tepkileri böyle bir aşılama ile indüklenir ²⁵⁴

2.7.1.17. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), bakteriyi reaktif oksijen türlerinden (ROS) koruyan ve homeostaz korunmasını sağlayan *H. pylori* enzimlerinden biridir. Katalazın aksine SOD sadece hücre yüzeyinde bulunur. SOD, süperoksidin oksijene dönüşünü kolaylaştırır ve yüksek miktardaki toksik süperoksit serbest radikallerinden korur. Bir metalloenzim olan SOD, özelliklerine ve kimyasal bileşimine bağlı olarak üç izoforma ayrılabilir: bakır-çinko SOD (Cu/Zn-SOD), mangan SOD (Mn-SOD) ve hücre dışı matris SOD (EC-SOD) . *H. pylori* SOD, Doğru ve etkili bir şekilde çalışması için SOD kofaktörü demire (Fe) ihtiyaç duyar. Hücrel Fe konsantrasyonlarındaki herhangi bir değişiklik, SOD aktivitesini azaltarak, oksidatif hasara karşı hücrel duyarlılığı artırır. Orta ve şiddetli düzeyde gastrit mukoza iltihabı olan *H. pylori* ile enfekte kişiler, sağlam mide mukozası olan kişilere göre daha fazla Mn-SOD ekspresyonu sergilemektedirler. Genel olarak Mn-SOD antrumda korpuse göre, pit hücrelerinde daha fazla eksprese olduğu gözlenmiştir ²⁵⁵. CagA-pozitif *H. pylori* suşlarında, CagA-negatif suşlara göre önemli ölçüde daha yüksek SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri bildirilmiştir ²⁵⁶. SOD, HOCl ve NO/peroksinitrit sinyal yollarının inhibisyonunda rol alır ve apoptozdan transform formuna dönüştürülmüş hücrelerin hayatta kalmasını artırır ²⁵⁷. MnSOD Ala16Val polimorfizminin reaktif gastropati riski ile ilişkili olabileceğini göstermiştir ²⁵⁸. *H. pylori* SOD, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini (nükleer faktör kappa B (NF-κB) aktivasyon yollarını down regüle ederek) ve ayrıca makrofaj inflamatuvar protein 2'nin (MIP-2) (IL-8 homologu), makrofaj aktivasyon yoluyla inhibe eder ²⁵⁹. Yapılan bir çalışmada, Mn-SOD, Cu/Zn, SOD'ya göre ROS'a karşı daha etkili bir koruma sağladığı göstermiştir ²⁶⁰. SOD-yoksun *H. pylori* mutantları, oksidatif hasara karşı daha fazla duyarlılık gösterir ve ayrıca mide mukozasına kolonize olmada başarısız olurlar, bu da SOD'nin kolonizasyonunda rolü olduğunu göstergesidir. Kolonizasyon dışında, SOD ekspresyonu, yüksek yoğunlukta oksidatif

stres ile konakçı mikroçevrede, bakterinin büyümesi ve hayatta kalması için çok önemlidir ²⁶¹. Ayrıca, SOD aktivitesi ile mide hastalıklarının başlanması ve ilerlemesi arasındada ilişki saptanmıştır ²⁶².

2.7.1.18. Arginaz

Arginazlar, üre döngüsünde L-argininini, L-ornitine ve üreye hidrolizini katalize eden üreohidrolaz ailesine ait Mn^{2+} -metalloenzimlerdir ²⁶³. Ökaryotlarda tanımlanmış iki farklı arginaz izoformu (tip I ve II) vardır. Arginaz I, genel olarak karaciğerde eksprese edilen ve üre döngüsünün son adımında yer alırken, arginaz II, L-arginin homeostazından sorumlu bir mitokondriyal enzimdir. Arginazlar, indüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) antagonistleridir; ayrıca apoptozu uyarırlar ve bakteri öldürmeyi önlerler. *H. pylori* arginazi, RocF geni tarafından kodlanır; arginaz, mide mikroçevresinde asit direnci sağladığı için bakteri kolonizasyonu için çok önemlidir. *H. pylori* arginazi, N-terminal asidik kalıntıların varlığının dışında arginaz II'ye benzerlik gösterir. Diğer arginazların aksine, *H. pylori* arginaz, kofaktör olarak Mn^{2+} yerine Co^{2+} veya Ni^{2+} ile daha yüksek katalitik aktivite sergiler ve alkalın yerine asidik pH'ta daha fazla aktivite gösterir; arginazın optimal aktivitesi pH 6.1'de gösterilmiştir ^{264, 265}. Hayvan çalışmaları, arginaz eksikliği olan *H. pylori*'lerin makrofajlar tarafından NO'ya bağlı öldürülmeye daha yatkın olduklarını göstermiştir; arginaz ayrıca CD3 ekspresyonunu azaltarak T hücrelerinin proliferasyonunu da inhibe eder ²⁶⁶. Ayrıca, arginaz, NO üretimini engelleyerek makrofajların bakterisidal aktivitesini bozar ²⁶⁷. Konak immün yanıtlarının arginaz ile ilişkili bozukluklarının ana mekanizması, NO üretiminin down regülasyonudur ²⁶⁸. *H. pylori* enfeksiyonunun akut evrelerinde arginaz inhibisyonunun makrofajlarda NO ve iNOS üretimini arttırdığını gösterilmiştir ²⁶⁹. *H. pylori* arginaz ekspresyonu, M1 makrofaj aktivasyonunu etkileyerek, Th1/Th17 T-hücre farklılaşmasını azaltarak ve ayrıca mide epitel hücrelerinde IL-8 transkripsiyonunu kontrol ederek immün yanıtları değiştirir ^{270, 271}. Ayrıca, *H. pylori* ile enfekte dokularda arginaz II'nin artan ekspresyonu, makrofajların apoptozunu indükler ²⁷². Arginaz, asidik mikroçevrede *H. pylori*'nin hayatta kalması için gereklidir; Ancak bakterinin kolonizasyonu için çok önemli değildir.

2.7.1.19. Kolesterol α -Glukosiltransferaz

Kolesterol α -glukosiltransferaz (CgT), konakçı hücre zarlarının kolesterolüne α -glukozil ekleyerek kolesterol α -glukozit (α CGL) oluşumunda rol oynayan, *H. pylori*'nin zayıf enzimlerinden biridir. *H. pylori*, kolesterolü kendi başına sentezleyemez, Ancak konakçı hücrelerin plazma membranından çıkarır; α CgT, kolesterolün sonraki glikozilasyonunda rol alır. *H. pylori* tarafından inaktive olarak üretilen α CgT, konak hücre duvarına bağlandıktan sonra aktive olur²⁷³. α CgT geninin yokluğu, bakteri tarafından kolesterolün absorbe edememesiyle önemli derecede ilişkilidir²⁷⁴. α CgT tarafından desteklenen glukosilasyon, *H. pylori*'yi fagositozdan ve bakteriyel enfeksiyonun neden olduğu bağışıklık tepkimelerinden korur²⁷⁵. Ayrıca, kolesterol glukozitler (CG'ler), CD4+ T hücrelerinin yanı sıra IL-4 ve IFN yollarından gelen yanıtların düzenlenmesinde rol oynar²⁷⁶. Artan α CgT ekspresyonu, IFNG-JAK/STAT1'in yanı sıra IL-6 ve IL-22 sinyal yollarını da inhibe ederek, konakçı inflamatuvar yanıtlarından bakteriyel kaçışın artmasına ve gastrik karsinogenezin daha da ilerlemesine neden olur²⁷⁷. α CgT, CagA translokasyonu için gereklidir ve IL-8'in aşırı salgılanmasını uyarır²⁷⁸. *H. pylori* ile enfekte hastalardan elde edilen mide biyopsi örneklerinden ölçülen α CgT seviyeleri, mide atrofi oranlarıyla pozitif olarak ilişkilidir²⁷⁹. Bu nedenle, daha yüksek α CgT seviyelerinin, özellikle enfeksiyonun erken evrelerinde, daha şiddetli *H. pylori* kaynaklı inflamasyona yol açan ve daha güçlü bağışıklık tepkilerini indükleyebileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, α CgT'nin bakterinin üremesi için çok önemli olduğu görülmektedir²⁸⁰.

Yapılan bir çalışmada α CgT'den yoksun *H. pylori* suşlarında, üremenin engellediği ve hatta bakteri öldürücülüğünün artırdığını gösterilmiştir²⁸¹. α CgT-pozitif suşların, disregulated otofaji süreçleri nedeniyle makrofajlarda sağ kalma olasılıkları daha yüksektir; ayrıca α CgT, otofagozom-lizozom füzyonunu keserek konak hücrelerinde bakterinin sağkalmasını destekler^{282, 283}. CG'lerden yoksun *H. pylori* suşları, hücre duvarlarının geçirgenliğini artırarak bakterinin patojenik potansiyeli azaltır²⁸⁴. Aynı zamanda, GC'lerin varlığının antibiyotik direncinde de önemli olduğu görülmektedir. Bu yüzden, α CgT, *H. pylori* enfeksiyonunun neden olduğu gastrit kanser, peptik ülserler veya MALT lenfoma için potansiyel bir moleküler terapötik hedef olabilmektedir.

2.7.1.20. γ -Glutamyl-Transpeptidase

γ -Glutamyl-Transpeptidase (GGT), glutamin ve glutatyonun sırasıyla glutamat ve amonyağa, ayrıca glutamat ve siteinilglisin'e dönüşümünü uyararak *H. pylori*'nin virulent enzimlerinden biridir. Glutaminin hidrolizi, VacA tarafından gerçekleştirilen vakuolasyon sürecini kolaylaştırır²⁸⁵. GGT, aşırı IL-8, IL-10, siklooksijenaz-2 (COX-2) salgılanması yoluyla mide epitel hücrelerinin apoptoz ve nekrozunun ilerlemesinin yanı sıra ROS (özellikle H₂O₂) salınımını, hücresel proliferasyonun inhibisyonunu yol açar. GGT, ROS (özellikle H₂O₂) salınımını, hücresel proliferasyonun inhibisyonunu ve ayrıca IL-8'in (NF κ B'ye bağlı bir şekilde), IL-10, siklooksijenaz-2 (COX-2) aşırı salgılanmasıyla gastrik epitel hücrelerinin apoptoz ve nekrozunun ilerlemesini destekler. indüklenabilir iNOS ve epidermal büyüme faktörü ile ilgili peptitlerde aynı anda, düzensiz hücre döngüsü süreçlerine neden olur²⁸⁶⁻²⁸⁹. Ayrıca, GGT ile indüklenen apoptoz, sitokrom c salınımı ve kaspaz yolağının (kaspaz-3 ve -9) aşırı aktivasyonu, mitokondriyal bağımlı bir şekilde uyarılır²⁹⁰. Yapılan bir çalışmada GGT'nin fosfolipaz C-inositol 1,4, 5-trifosfat (PLC-IP₃) yolunun aktivasyonu yoluyla Ca²⁺ düzeylerini artırabileceğini ve sonunda apoptotik süreçleri güçlendirebileceğini göstermiştir²⁹¹. Disregulasyonlar ilk olarak GGT'ye bağlı hücre döngüsünün G1 fazında durması ve siklin A ve E, Cdk 4 ve 6'nın down regülasyonu ve p21'in p27'inin up regülasyonu ile gerçekleşir^{292, 293}. GGT-pozitif suşlar ile enfekte bireylerin, safra hücrelerinde de apoptotik süreçler ve artmış inflamasyon gözlenmiştir, bu da *H. pylori* GGT'nin kolanjiokarsinomun ilerlemesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir²⁹⁴. GGT, CD4-pozitif T-hücre proliferasyonunu inhibe ederek, CD8+ hücrelerinin mide mikroçevresine infiltrasyonunu kolaylaştırarak ve dendritik hücrelerin farklılaşmasını önleyerek, fenotiplerinde tolerojenik değişiklikleri tetikleyerek immün toleransı düzenler, bakterinin kolonizasyonu ve gastrik mikroçevrede kalıcılığı uyarır²⁹⁵⁻²⁹⁷. GGT aşırı down regüle olması, cMyc veya interferon düzenleyici faktör 4 (IRF4) gibi uygun T hücresi işlevi için çok önemli olan ana yolları down regüle eder ve CD25 ekspresyonunu ve IL-2 salınımını inhibe ederek T hücrelerinin proliferasyonunu bozar²⁹⁸. GGT-negatif *H. pylori* mutantları, mide epitelinde kolonizasyonda başarılı olamazlar^{299, 300}. Ayrıca, GGT inhibisyonu bakterilerin büyümesini etkilemektedir bu yüzden de GGT bakterilerin gelişimi için önemli bir faktördür. GGT, VacA gibi diğer virülans faktörleri ile CD25 ve CD69 ekspresyonunu inhibe ederek ve IL-2, IL-4, IL-10

ve IFN- γ seviyelerini azaltarak sinerjistik olarak etki gösterir; IFN- γ seviyeleri büyük ölçüde GGT aktivitesine bağlıdır. GGT tarafından uyarılan, bozulmuş ve disregüle bağışıklık tepkileri, mide karsinogenezinin ilerlemesine daha fazla katkıda bulunabilir. GGT, DNA hasarının yanı sıra hücresel hiperproliferasyona da dahil olduğundan, bu süreçler, gastrik epitel hücrelerinin malign fenotipe ilerlemesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. GGT-pozitif *H. pylori* suşları ayrıca hücre canlılığını azaltma ve hayatta kalma kaybını teşvik etme yeteneği gösterir. Gastrik karsinogenezin yanı sıra GGT, peptik ülser hastalığının başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunabilir^{123, 276}.

2.7.1.21. Nötrofil-Aktive Edici Protein

Nötrofil-aktive edici protein (NAP), nötrofililerin gastrik epitel hücrelerine adezyonunu stimüle eden *H. Pylori*'nin virülans faktörlerinden biridir ve enfeksiyonun belirli fazlarında ROS ve miyeloperoksidaz üretimini destekler. NAP, nötrofilleri ve mast hücrelerini aktive etmenin yanı sıra monosit göçünü de destekler. Nötrofiller öncelikle ERK ve p38-MAPK yollarının aşırı aktivasyonu nedeniyle uyarılırlar³⁰¹. NAP, pro-inflamatuar aktiviteler gösterir ve *H. pylori* enfeksiyonu sırasında inflamasyonun ve doku hasarının ilerlemesinde yüksek oranda rol alır. NAP, ferritine yapısal benzerlik gösterir ve ağır koşullar altında (Dps) DNA koruyucu protein ailesine aittir. Bununla birlikte, direkt ona bağlanmadan feroksidaz aktivitesi sunar; feroksidaz merkezinin varlığı nedeniyle, NAP, Fe³⁺'ya oksitlenen Fe²⁺ iyonlarını içerir ve tüm süreç, *H. pylori* DNA'sını hasardan koruyan hidroksil radikalleri ile sonuçlanır³⁰². Demir iyonları dışında NAP, çinko veya kadmiyum gibi diğer iyonları depolama yeteneğinde sahiptir³⁰³. NAP, monositlerin ve polimorfonükleer granüositlerin infiltrasyonunu ve ayrıca β 2-integrinlerin yüzey ekspresyonunu uyarır; ayrıca insan kanı mononükleer hücrelerini doku faktörü (TF) ve plazminojen aktivatör inhibitörü-2 (PAI-2) salgılamasında stimüle eder ve pıhtılaşma ile fibrinoliz arasındaki dengesizliğe yol açar³⁰⁴. Ayrıca NAP, nötrofillerden interlökin-8 (IL-8), MIP-1 α veya CCL3 ve MIP-1 β (CCL4) gibi çeşitli kemokinlerin salınımını indükler, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), IL-6, ve monositler tarafından IL-8, mast hücreleri tarafından β -heksosaminidaz ve IL-6 salınımına sebep olur. NAP, miyeloid hücreleri, Bcl-2 ailesinin anti-apoptotik proteinlerinin miktarını artırarak onları apoptozdan koruyarak miyeloid hücrelerinin aktivasyonunu uzatır. NAP'ın en önemli işlevlerinden biri, nötrofil aktivasyonunu

uyarmaktır. bunun sonucunda IL-12 ve IL 23'ün daha fazla salınımı ve Th-1 immün yanıtı indüklenmesi ve aynı zamanda aşırı miktarda IFN- γ salımı ile Th-2 yanıtlar inhibe edemektedir. Yukarıda bahsedilen faktörlerin salınması, gastrin ve pepsinojenin salgılanmasını ve ardından mide mukozasının hasar görmesini önemli ölçüde artırır. Bu değişiklikler, bozulmuş fibrin uzaklaştırma süreçleri ve daha fazla bozulmuş iyileşme süreçleri yoluyla kronik gastritin ilerlemesinde katkıda bulunabilir. Ayrıca NAP, mast hücrelerini heksosaminidaz ve IL-6 salgılaması için uyarır ve proinflamatuvar bir kaskadı kolaylaştırır^{123, 305-307}. Kronik inflamasyonun sürdürülmesindeki rolü, NAP ile indüklenen Ag-spesifik T hücrelerinin aşırı aktivasyonu ve dendritik hücrelerin olgunlaşmasının ve ardından göçün yoğunlaşması olarak da gözlenir³⁰⁸. NAP işlevleriyle ilgili hipotezlerden biri de demire bağlanmasıdır. Ancak enflamasyondaki önemi, mide mukozasındaki epitelyal sıkı bağlantıları ve bazal membranları bozarak da kendini gösterir; ayrıca enfeksiyon sırasında *H. Pylori*'nin büyümesini sağlayan besinlerin salınımını uyardığına inanılmaktadır^{309, 310}. Ayrıca NAP *H. pylori*'nin DNA'sını korumasında katkı sağlamasıyla hayatta kalmasını kolaylaştırır³¹¹

2.7.1.22. High Temperature Requirement A (HtrA)

Yüksek sıcaklık gereksinimi A (HtrA), mide epitelyal hücrelerde E-kadherini hedef alan, E-kadherin hücre dışı domeynini ayırarak epitelyal bariyer işlevlerinde bozulmalara yol açan *H. pylori*'nin serin proteazıdır. HtrA, başlıca epitel yapışan bağlantılar/epithelium adherens junctions (Ecadherin) ve sıkı bağlantılar (okludin ve claudin-8) içindeki iki tip bağlantının yanı sıra agrekan, proteoglikanlar ve fibronektin gibi bazı hücre dışı matris proteinlerini bozar^{123, 312}.

HtrA, *H. pylori* OMV'lerinde lokalizedir. Yapılan birkaç çalışmada, *H. pylori* HtrA'nın inhibisyonunun, *H. pylori*'nin gastrik epitelden geçişinin bloke edilmesiyle ve ayrıca gastrik epitelyal hücrelerdeki değişiklik sayısının azalmasıyla sonuçlandığını bildirmiştir^{313, 314}.

HtrA, HtrA-negatif türlerle karşılaştırıldığında *H. pylori* migrasyon özelliklerini 2.2 kata kadar artırabilir³¹⁵. Bu virülans faktörünün periplazmaya taşınması, iç zar boyunca Sec'e bağlı taşımadan sorumlu sinyal peptidinin varlığı ile sağlanır. Gastrik epitel yoluyla *H. pylori* göçünün yanı sıra, HtrA, $\alpha 5\beta 1$ reseptörü ile etkileşime girerek konakçı hücrelere CagA enjeksiyonunda rol oynar. HtrA ekspresyonu, düşük pH'da ve

stres koşulları altında önemli ölçüde artar. HtrA geni, coğrafi bölgelerden bağımsız olarak çok sayıda *H. pylori* suşunda oldukça yaygındır.

Merak uyandıran şey, HtrA inhibisyonunun *H. pylori* suşları için öldürücü olabileceği ve bunun *H. pylori*'nin temel virülans faktörünü oluşturduğunu göstermesidir; çinko ve bakır iyonlarının HtrA aktivitesinin etkili inhibitörleri olduğu sunuldu. Ayrıca, aşırı miktarda kalsiyum iyonu, bağlantıların ek stabilizasyonu ile birlikte HtrA ile ilişkili E-cadherin bölünmesini engelliyor gibi görünmektedir ^{123, 316}. Ayrıca, HtrA'dan yoksun olan *H. pylori* suşları, yüksek sıcaklık, ozmotik şok veya puromisin ile tedavi gibi belirli koşullara çok daha duyarlıdır ^{317, 318}. Aslında HtrA, *H. pylori*'yi çeşitli stres koşullarından koruyan ve mide mukozasında etkili bakteri kolonizasyonu sağlayan çok önemli bir koruyucu faktör oluşturur. HtrA'nın EMT'yi ve daha fazla tümör oluşumunu indükleyebilecek potansiyel faktörlerden biri olduğundan şüphelenilmektedir; ancak şimdiye kadar, bu bilgilerin doğrulamasını sağlamak için yeterli veri bulunmamaktadır ¹²³

2.7.1.23. Isı Şok Proteinleri

Isı şok proteinleri (Hsps), hücrel proteinlerin, yapısal ve fonksiyonel özelliklerini korunmasından sorumlu olan moleküler şaperonlar gibi davranan bir protein ailesini oluştururlar.

Yukarıda bahsedilen rolleri dışında, Hsps apoptoz, otofaji, bağışıklık, inflamasyon, karsinogenezin ayrıca oksidatif strese karşı korumayı da düzenlerler. *H. pylori* tarafından ekspre edilen üç ana Hsps: —HspB (Hsp60), HspA (Hsp10) ve Hsp70— ve bunların ekspresi iki ana baskılayıcı —HspR ve HrcA tarafından düzenlenir.

HspB, Nrf2/Keap1 yolunu etkiler, Nrf2 translokasyonunu, ardından COX-2, IL-8 ve metalloproteinazların (MMP3 ve MMP7) artan salınımını inhibe eder ve inflamatuvar yanıtları artırır ³¹⁹.

HspA, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında üreaz aktivasyonu için çok önemlidir. *H. pylori*'nin HspA'sı, Hsp60'ın insan homologlarına yaklaşık %50 benzerlik gösterir ³²⁰. HspA, bizmut kadar nikel iyonlarına da bağlanır; bu nedenle, potansiyel anti-ülser ilaçları için moleküler bir hedef oluşturabilir ³²¹. Mide mukozasında HspA60 aracılı inflamasyon, TLR ile etkileşimlerinden ve mide mukozasında NF-κB, ERK ve MAP

kinaz bakteriyel kolonizasyonunun aşırı aktivasyonundan kaynaklanır, bunun sonucunda Hsp70 veya Hsp90 gibi konakçı Hsps ekspresyonunu önemli ölçüde azaltır, ve aynı zamanda Hsp32 ve Hsp27 seviyelerini artırır, bu da ek olarak daha fazla hasara yatkınlığı artırır. (MAPK) sinyal yolları, ardından monositik hücrelerden IL-8 ve TNF- α sekresyonu gerçekleşir. Makrofajlar, enflamasyonu destekleyen Treg hücrelerinin proliferasyonunu uyaran NF- κ B yolunun aşırı aktivasyonu nedeniyle IL-6'yı ve ayrıca IL-10 ve TGF- β 'yi serbest bırakmak için Hsp60 tarafından uyarılırlar. Ayrıca Hsp60, *H. pylori* yapışmasında ve mide epitelinde daha fazla kolonizasyonda rol oynar. HspA'nın C-terminal bölgesinin nikel sekestrasyonu ve detoksifikasyonunda bir rol oynadığı ve nikel homeostazı *H. pylori* kolonizasyonu için çok önemli olduğu için, bu virülans faktörü *H. pylori* eradikasyonu için potansiyel bir hedef moleküler olarak görünebilir ^{123, 322, 323}.

H. pylori motilitesi, Hsps inhibitörlerinin (HspR ve HrcA) ekspresyonu ile yüksek oranda ilişkilidir ³²⁴. HspA seropozitifliğinin bireyin yaşıyla birlikte arttığı gösterilmiştir ³²⁵. Hsp60, *H. pylori*'den mide epitel hücrelerine difüze olur, kalıcı enfeksiyon, inflamasyon ve ardından tümör hücresi göçü ve anjiyogenezin artırılması yoluyla karsinogeneze yol açar. Hsp60 aracılı anjiyogenez, öncelikle mide epitel hücrelerinde CXCR2/PLCb2/Ca²⁺ sinyal yolları tarafından desteklenir ³²⁶.

Hsp60 ayrıca gastrik MALT lenfomada *H. pylori* eradikasyonu ile ilgili potansiyel bir öngörücü faktör olabilir ³²⁷⁻³²⁹. Ayrıca, insan Hsp60'ı ile bakteriyel HspB arasında Hsps'nin çapraz reaksiyonları yaygındır ve bunlar, *H. pylori* tarafından eksprese edilen Hsps dışında, gastrointestinal hastalıkların başlamasını önemli ölçüde kolaylaştırır ³²¹.

2.7.2. Hastaya Ait Faktörler

2.7.2.1. Doku Polimorfizmi

Mide kanseri gelişimi ile ilgili yapılan çalışmalar, genetik yatkınlık ve kronik *H. pylori* enfeksiyonunun mide karsinogenezisini başlatmak için karmaşık bir etkileşimin olduğunu göstermektedir ^{330, 331}. Enflamasyonla ilişkili genlerde, özellikle sitokinler ve reseptörlerindeki genetik varyasyonların, *H. pylori* enfeksiyonunun sonucunda ve mide lezyonlarının ilerlemesinde rol oynadığı düşünülmektedir ³³⁰. Bu polimorfizmler,

üretilen sitokinlerin sayısını ve dolayısıyla inflamasyonun paterni ve şiddetini etkilemede eksojen uyarılar kadar önemli olabilmektedir³³². *H. pylori* enfeksiyonunda anahtar patofizyolojik durum, epitel hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği ve düzenlediği mide mukozasındaki inflamatuvar cevabın indüklenmesidir^{2, 3}. *H. pylori* ile indüklenen bu gastrik mukozal inflamasyona proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler aracılık eder. Sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokin salgılama seviyelerini etkilediği ve mide hastalıkları için risk oluşturduğu düşünülmektedir. Gastrik patolojileri, konağın genetik yapısı ile *H. pylori* virölans genleri arasındaki karmaşık bir etkileşim içinde gelişmektedir. İnterlökin IL-6,IL-8,IL-10,IL-17A ve IL-19 gibi sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokinlerin salgı seviyelerini etkilediği ve GİS hastalıklarının gelişmesine sebep olduğu düşünülmektedir⁵⁻⁷.

2.7.2.2. IL6 Polimorfizmi

İnterlökin-6, inflamatuvar bir aracı ve bir endokrin düzenleyici olarak işlev gören proinflamatuvar bir sitokindir. Ayrıca, doğal ve kazanılmış immunité arasında bir haberci olarak konak savunma mekanizmalarında önemli bir role sahiptir³³³. IL-6 geni, kromozom 7'de bulunur. IL-6'nın promotör bölgesindeki bulunan polimorfizmler, birkaç kronik inflamatuvar hastalık ile ilişkilendirilmiştir³³⁴. IL-6'nın 174(G/C) konumunda 50 yan bölgesinde bir polimorfizm tanımlanmıştır³. Bu polimorfizm, IL-6 geninin transkripsiyonunda ve ekspresyonunda bireyler arası varyasyonlarla sonuçlanabilir ve bu nedenle bir bireyin *H. pylori* enfeksiyonu ve altta yatan patogenezi içeren çeşitli hastalıklara duyarlılığını etkileyebilir. IL-6'nın gastrik mukozal seviyeleri, *H. pylori* ile ilişkili gastritte yükselir ve enfeksiyonun eradikasyonundan sonra azalır^{3, 335}. Ek olarak, mide kanseri olan *H. pylori* pozitif bireylerde mide IL-6 düzeylerinin arttığı bildirilmektedir³³⁶.

2.7.2.3. IL-8 Polimorfizmi

CXC kemokin ailesinin bir üyesi olan IL-8, başlangıçta nötrofiller ve lenfositler için güçlü bir kemo-atraktan olarak tanımlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, IL-8'in hücre çoğalmasını ve göçünü ve ayrıca anjiyogenezi indükleyebileceğini doğrulanmıştır

³³⁷.

H. pylori'ye karşı gelişen immün cevapta, toll like reseptör 5 (TLR5), nötrofil aktive edici protein A (NAP), ısı şoku proteini 60 (Hsp60), sitotoksin ile ilişkili gen A (CagA) ve vakuolatör sitotoksin A (VacA) dahil olmak üzere çeşitli yollarla, pro-inflamatuar sitokinler özellikle interlökin 8 (IL-8) üretir³³⁸. IL-8, *H. pylori* kaynaklı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü sahip bir sitokindir³³⁹. IL-8 seviyesi, GC hastalarında normal mide dokularına sahip olanlara kıyasla 10 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir³⁴⁰. IL-8, *H. pylori* ile enfekte mide mukozasında kemotaksiye ve inflammatuar hücrelerin aktivasyonuna neden olur³⁴¹. 4'uncu kromozom üzerinde yer alan IL-8 geni, transkripsiyon başlangıç bölgesine göre 251 nt'de tek bir nükleotid polimorfizmi (SNP T-A baz geçişi) sergiler^{342, 343}. A aleli, artan IL-8 üretimi ve sonuç olarak güçlendirilmiş bir inflammatuar cevap ile ilişkili olma eğilimindedir^{3, 342}.

2.7.2.4. IL-10 Polimorfizi

Bu iki sitokinden farklı olarak IL-10, hücre aracılı immün cevapları ve Th1 sitokinlerinin ekspresyonunu ve down regüle eden, B hücresi proliferasyonunu ve farklılaşmasını regüle eden ve immün düzenleyici aktivite sergileyen bir anti-inflamatuar sitokindir^{344, 345}. *H. pylori*, etkili bir bağışıklık cevabını bastırmanın bir yolu olarak IL-10 up regülasyonuna yol açabilir, bu da enfeksiyonu ve mikroorganizmanın hayatta kalmasını destekler³⁴⁶. İnsan IL-10'unu kodlayan gen, kromozom 1'de bulunur. Bu genin promotör bölgesinde düşük IL-10 üretimi ile bağlantılı iki SNP rapor edilmiştir. Bunlar; -819 pozisyonunda bir C-T baz geçişi ve -592 pozisyonunda bir C-A baz geçişidir^{347, 348}. Düşük IL-10 üretimi, artan gastrik inflamasyon yoğunluğu ve *H. pylori* ile enfekte hastalarda artmış gastrik karsinom riski ile ilişkilidir^{349, 350}.

2.7.2.5. IL-17 Polimorfizmi

İnterlökin-17 (IL-17), adaptif ve doğal bağışıklık sistemleri arasında köprü kuran nispeten yeni tanımlanmış bir sitokindir³⁵¹. Keşfedilen anti-inflamatuar sitokin IL-17 gurubu : IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E ve IL-17F. IL-17A ve IL-17F çok sayıda kemokin ve sitokin ekspresyonunu indüklemekte ve nötrofillerin göçünde ve aktivasyonunda önemli role sahiptir³⁵². Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, belirli IL-17 polimorfizmlerinin, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar ve ülseratif kolit

gibi enflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir; Bu sitokinin anormal ekspresyonunun vücudu çeşitli hastalıklara daha yatkın hale getirdiği düşünülmektedir. Ek olarak, IL-17'nin *H. pylori* aracılı indüksiyonunun hastalığın ilerlemesine sebep olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. IL-17 'nin özel bir polimorfizmi (G-197A veya rs22759133), hem Japon hem de Çin popülasyonlarında belirli mide kanseri türleri ile ilişkilendirilmiştir. IL-17 promotör bölgesi içinde -197 pozisyonundaki guanin ile Adenin yer değiştirmesi, 2 nükleer faktörle aktive edilmiş T hücresi bağlama motiflerinin yakınında yer alır. Bu bölgenin IL-17 ekspresyonu için gerekli olduğu gösterildiğinden, bu mutasyonu barındıran hücrelerin daha yüksek seviyelerde IL-17 ürettiğine ve bunun da IL-17 aracılı bağışıklık tepkilerini up regüle ettiğine inanılmaktadır. Bu hipotez, çeşitli tümör türlerinin artan IL-17 seviyelerini eksprese etmesi gerçeğiyle desteklenir. Bu veriler, IL-17 G-197A polimorfizminin bu hasta popülasyonunda mide kanseri gelişimine yatkınlık için iyi bir marker olabileceğini göstermektedir³⁵³.

2.7.2.6. IL-19 Polimorfizmi

İnterlökin-19 (IL-19), pro- ve anti-inflamatuvar özelliklere sahip bir pleiotropik sitokindir. Mide kanseri ve ülser gelişiminde önemli bir etiyolojik faktör olduğu gösterilen *H. pylori* enfeksiyonunun patogenezinde önemli bir rol oynar. IL-19'un işleyişini değiştiren Tek Nükleotid Polimorfizmleri bu nedenle, bu hastalıkların patogenezinde ve sonuçlarında önemli bir rol oynayabilir. IL-19'un IL-10 sitokin ailesinden biri olarak önemini göz önünde bulundurarak, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında bağışıklık tepkisinin düzenlenmesine olası katkıda bulunan faktörler olarak IL-19 gen polimorfizmlerinin (rs1028181, -513 T/C) (rs2243191, Ser175Phe T/C) sıklığını araştırılmıştır. Bu polimorfizmler IL-19 geninin promotör bölgesinde yer aldığından, IL-19 geninin ekspresyonunu etkileme olasılıklarının daha yüksek olduğunu görülmüştür³⁵⁴.

2.7.3. Çevresel Faktörler, Beslenme Alışkanlıkları ve Sigara

Direkt olarak mide mukozasında inflamasyona yol açabilen alkol ve kötü beslenme alışkanlıkları gastrointestinal hastalıkların gelişiminde önemli rol almaktadır. Alkol, sigara ve nitrozamin gibi çeşitli karsinojenlere maruz kalan *H. pylori* ile kornik

olarak enfekte mide mukozasına sahip kişilerde patolojinin neoplastik transformasyona doğru yönelmesini kolaylaştırmaktadır.

2.8. *H. pylori* ve İmmünite

H. pylori kolonizasyonu ile çeşitli doğal bağışıklık mekanizmaları aktive edilir. Toll benzeri reseptörler (TLR) 2, 4 ve 5, *H. pylori*'nin PAMP'lerini tanıyabilir, NF- κ B ve IL-8'i aktive eden bağışıklık yollarını tetikleyerek lokal bir proinflamatuvar yanıtı indükler. *H. pylori* hücre dışı ve genellikle non-invaziv bir patojendir, ancak üreaz ve VacA toksininin salgılanması lokal inflamatuvar yanıtları tetikler. En çok araştırılan virülans faktörü, tip I suşlar tarafından taşınan Cag patojenite adası tarafından kodlanan tip IV sekresyon sistemidir (TIVSS). Bakteriyel tutunmadan sonra TIVSS, sitotoksin CagA'yı sitoplazmaya iletir ve burada NF- κ B'yi aktive eden hücre içi sinyalleşme basamaklarını başlatır ve lokal inflamatuvar yanıtı katkıda bulunur. Bu inflamasyonun kombine etkisi, epitelin erozyonuyla sonuçlanır ve bakterilerin büyümesi ve kolonizasyonu için besinleri serbest bırakır. Ayrıca, NOD1 gibi hücre içi patojeni tanıyan moleküller, TIVSS yoluyla epitelyal hücrelere verilen *H. pylori* peptidoglikanlarını bağlayabilir ve yanıt olarak diğer anti-mikrobiyal proteinlerin salınımını tetikleyerek bakteri üremesini kısıtlayabilir ve ek bağışıklık eylemi başlatabilir.

Ek makrofajlar uyarılabilirken, *H. pylori* hücrenin bağışıklık etkisini baskılayarak makrofaj nitrik oksit üretimini nötralize edebilir. *H. pylori* başlangıçtaki epitelyal yanıtı bir kez baskılandığında, kalıcı enfeksiyon, dendritik hücreler tarafından tetiklenen adaptif bir bağışıklık yanıtını harekete geçirir. Lokal yanıt, humoral ve T hücresi (özellikle Th1 ve Th17) aktivasyonundan oluşur. Genel olarak, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında mide mukozasına plazma hücreleri, lenfositler, nötrofiller ve diğer bağışıklık hücrelerinin göçü gerçekleşir, ancak bu nadiren bakterinin tamamen temizlenmesiyle sonuçlanır ve zamanla önemli bir T regülasyon hücre popülasyonu oluşur. Enflamasyonun *H. pylori* tarafından bu şekilde kontrol edilmesi, muhtemelen *H. pylori* ile enfekte olmuş birçok kişide hastalığın neden asemptomatik seyr ettiğini açıklamaktadır. Mide, gastrointestinal sistemin geri kısımlarına kıyas, IgA'nın taşınmasından sorumlu reseptör olan polimerik immünoglobulin reseptörlerine (pIgR) nispeten daha az sahiptir. Bu, kronik *H. pylori* enfeksiyonunda, uzun süreli

inflamasyonla ilişkili yüksek g-interferon seviyelerinin neden olduğu pIgR'nin up regülasyonu ile sonuçlanır. pIgR'nin up regülasyonu, *H. pylori* ile enfekte olanların midesinde baskın olan monomerik non-sekretory IgA ile lokal sekretory IgA seviyelerinde karşılık gelen bir artışla sonuçlanmaz. Buna karşılık, sekretory IgA, bağırsak kommensallerine ve patojenlere yanıt olarak yaygın olarak gözlenir, bu da midede pIgR'nin farklı bir etki modunu düşündürür. Sistemik *H. pylori*'ye özgü IgG, kronik enfeksiyon yaşayan erişkinlerde de üretilir^{188, 355-359}.

2.9. *H. pylori* ve Hastalıklar

2.9.1. *H. pylori* ve Kronik Gastrit

Mukozal hasarla ilişkili mide epitelinin iltihaplanması gastrit olarak tanımlanır. Dünyada kronik gastritin en sık nedeninin *H. pylori* enfeksiyonu olduğu belirlenmiştir. *H. pylori* enfeksiyonunun neden olduğu proinflamatuvar sitokin üretimi ve inflamasyon, gastrin üreten G hücrelerini, somatostatin üreten D hücrelerini ve asit üreten parietal hücrelerini etkileyerek midede asit homeostazında önemli değişikliklere neden olur. *H. pylori*'nin neden olduğu gastrit de somatostatin düzeylerini düşürür. Somatostatin gastrin sekresyonunu olumsuz etkilediğinden bu hastalarda gastrin düzeylerinde artışa ve gastrik asit sekresyonunda artışa neden olur. Gastrin ekspresyonu, *H. pylori* ile indüklenen proinflamatuvar sitokinlerin G hücreleri üzerindeki direkt uyarıcı etkisi ile arttırılabilir. Korpus baskın gastrit, midede düşük asit sekresyonunun salgılamasıyla, bireyi mide kanserine yatkın hale getirir. Midenin antrumunda oluşan enfeksiyon, asit üretiminin artmasına neden olur ve bireyin, mide kanseri riskinin azalmasıyla ilişkili olan duodenal ülser hastalığına yatkın hale getirir. ROS veya reaktif nitrojen türü üretimi, *H. pylori* enfeksiyonuna yanıt olarak nötrofiller ve makrofajlar/monositler tarafından üretilir. Bunlar DNA hasarına neden olma potansiyeline sahiptir. DNA hasarının, mide dokusunda bazı önemli genlerin mutasyonlarına yol açarak gastrit-atrofi-metaplazi-displazi-kanser sekansı olarak temsil edilen mide karsinogenezinde bir dizi olayı tetiklediği düşünülmektedir³⁶⁰⁻³⁶².

2.9.2. *H. pylori* ve Mide Kanseri

Dünya çapında önde gelen beşinci kanser türü ve dünya çapında kansere bağlı üçüncü ölüm nedeni olan mide kanserinin risk faktörleri arasında *H. pylori* enfeksiyonu,

yaş, yüksek tuz tüketimi ve düşük meyve ve sebze tüketimi yer almaktadır. *H. pylori*'nin patojenitesi ve üreaz, VacA, CagA ve peptidoglikan dış membran proteinleri (BabA, OipA, SabA) gibi bakteriyel faktörler mide epitel hücrelerini etkiler. Ayrıca konağın genetiği, polimorfizmlere neden olan IL-8, IL-1, IL-10 ve TNF- gibi sitokinleri kodlayan genleri etkileyen *H. pylori* enfeksiyonundan etkilenir ve proinflamatuvar yanıtları artırarak mide kanseri riskine yol açar. Bu nedenle mide kanseri sadece *H. pylori* suşunun özelliklerinden değil, aynı zamanda konağın genetik belirleyicilerinden ve çevresel faktörlerden de etkilenir. Mide kanseri riskinin artmasıyla ilişkili çevresel faktörlerden birinin de yüksek tuz alımı diyetli beslenme olduğu kanıtlanmıştır^{360, 363, 364}. Yapılan Çalışmalarda dikkat çeken nokta, yüksek tuzlu gıda alımının *H. pylori*'de CagA düzeylerini artırarak enfeksiyonu desteklemesidir. *H. pylori*'nin eradikasyonu mide kanseri riskini azaltabilir ve çalışmalar, en yüksek risk altındakiler dahil olmak üzere mide kanseri oluşumunu azaltabileceğini doğrulamıştır³⁶⁰.

2.9.3. *H. pylori* ve Peptik Ülserler

Tüm dünyada önemli bir morbidite ve mortalite kaynağı olan peptik ülser hastalığı genellikle asemptomatik seyreder. Semptomatik peptik ülser hastalığının semptomları şişkinlik, dispepsi, bulantı, erken doyma veya karında dolgunluk ile ilişkili epigastrik ağrıdır. Mide ve proksimal duodenumda sıklıkla peptik ülser saptanır. Çoğu peptik ülser hastalığı vakasının *H. pylori* enfeksiyonu, nonsteroid anti inflamatuvar ilaçların (NSAID'ler) kullanımı veya her ikisi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Atrofik olmayan antral baskın gastritli kişilerde, antrumda azalmış somatostatin nedeniyle yüksek uyarılmış asit üretimi ve artmış gastrin seviyeleri vardır. Klinik olarak, duodenum ülserleri bu grupta yaygındır^{360, 365, 366}. Özellikle *H. pylori*'nin neden olduğu gastrit, somatostatin düzeylerinde azalmaya neden olur³⁶². Diğer taraftan, atrofik gastritli kişilerde (hem antrum hem de korpus mukoza ile ilgili) asit üretimi bozulmuştur. Bu fenotipin proksimal gastrik ülserler, daha ileri kanser öncesi lezyonlar ve artmış mide kanseri riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmalar, *H. pylori*'nin eradikasyonu ile peptik ülserlerde iyileşme olduğunu göstermiştir. *H. pylori*, gastrit ve peptik ülser gibi gastroduodenal hastalıkları indükleyerek ve doğuştan gelen ve spesifik bağışıklık tepkilerini indükleyerek, gastrik/duodenalmukozayı kronik olarak

kolonize eder; ancak enfeksiyon ortadan kaldırılmazsa kronik aktif gastrit durumu yaşam boyu devam edebilir^{360, 367}.

2.10. *H. Pylori* Tanı

2.10.1. Endoskopi ve Klinik Tanı

H. pylori enfeksiyonu için tanı testleri invaziv (endoskopik) veya non-invaziv (endoskopik olmayan) ikiye ayrılır (Tablo 3).

Endoskopide alınan biyopsi örnekleri daha çok histolojik analiz ve üreaz testi için kullanılır. Tanıda Antibiyotik direnç testi, bireysel klinik teşhise yardımcı olmak veya popülasyon direnç oranlarını belirlemek amacı dışında, biyopsi örneklerinden kültürü yapılmaz. Genellikle midedeki iki topografik konumdan alınan biyopsi örnekleri ve kullanılan iki test yönteminin kombinasyonu, tanı için en etkilidir. Aslında bu genellikle histoloji için midenin antrum ve korpus bölgesinden ve üreaz testi için antrumdan alınan biyopsiler anlamına gelir. Biyopsi örneklerinin daha iyi histolojik olarak gözlemesi için Operative Link on Gastritis Assessment (OLGA) ve Operative Link on Gastritis/Intestinal-Metaplasia Assessment (OLGIM) protokolleri gibi geliştirilmiş biyopsi protokolleri kullanılabilir. Histoloji genellikle maliyetlidir ve operatöre bağlıdır ve diğer test yöntemleriyle karşılaştırması gerekir yoksa tek başına yeterli değildir³⁶⁸.

2.10.2. Mikrobiyolojik Tanı

2.10.2.1. İnvaziv Testler

2.10.2.1.1. Hızlı Üre Testi (RUT)

Eskiden *Campylobacter* benzeri organizma (CLO) testi olarak bilinen RUT, hızlı sonuçlar vererek tedavinin gecikmeden başlatılmasını sağlar. *H. pylori* tespiti için mide biyopsi örneklerinin ticari olarak bulunan bir analiz kitine yerleştirildiği basit ve düşük maliyetli bir invaziv yöntemdir. Renk değişikliğiyle gösterilen sonuçlar, dakikalar ile saatler arasında gerçekleşir. Ancak bu test, yeterli miktarda mide biyopsi örneği gerektirir ve duyarlılığı, mevcut herhangi bir *H. pylori* organizmasının bulunduğu bölgeye göre değişir: daha doğru sonuçlar elde etmek için örneklerle yeterli sayıda bakteri dahil edilmelidir. Bu nedenle, testin duyarlılığını ve özgüllüğünü etkileyebilecek

kanama gibi müteakip olumsuz sonuçlarla birlikte daha büyük bir doku hasarı riski vardır. Ayrıca, biyopsilerin saklama süresine bağlı olarak özgüllüğünde azalmaktadır. Son çalışmalarda, genel olarak en iyi sonuç alabilmek için korpus ve antrumdan (mümkünse, makroskopik olarak normal) 2 numune alınması gerektiğini göstermektedir. Hasta antibiyotik, bizmut içeren ajanlar veya proton pompası inhibitörleri (PPI'ler) kullanıyorsa veya aklorhidri, mide atrofisi, bağırsak metaplazisi veya peptik ülser kanaması gösteriyorsa yanlış negatif sonuç riski de vardır ³⁶⁹⁻³⁷³. Aksine, yanlış pozitif sonuçlar, *Staphylococcus capitis ureolyticus* gibi bazı üreaz pozitif bakteriler tarafından tetiklenebilir ³⁷³.

Svap kullanarak gastrik mukozasını emerek büyük miktarda *H. pylori* organizmasını toplayan yeni tanıtılan bir “süpürme” yöntemi olan geleneksel RUT ile karşılaştırıldığında, daha hızlı tespit süresi ile *H. pylori* organizmalarının tespitinde daha yüksek hassasiyet ve doğruluk sağladığı görünmektedir. “Süpürme” yöntemi, *H. pylori* eradikasyonu gereken hastalarda daha doğru tanı sağlayabilir, böylece muhtemelen adenomun mide karsinomuna ilerlemesini önleyebilir ve endoskopik submukozal diseksiyon sonrası metakron mide malignitesinin gelişimini azaltabilir. Ayrıca RUT, hem mide hem de kolorektal neoplazmaları saptamak için kullanılmıştır ^{369, 374, 375}.

2.10.2.1.2. Histoloji

Histoloji sadece aktif *H. pylori* enfeksiyonunun saptanmasında değil, aynı zamanda gastrit, gastrik atrofi, intestinal metaplazi ve neoplazi gibi patolojik lezyonların değerlendirilmesine de izin verir. *H. pylori* saptamasını etkileyebilecek faktörler arasında biyopsilerin sayısı ve yeri, boyama yöntemleri ve patoloğun deneyimi yer almaktadır. Mide örneklerinin histolojik incelemesi, aktif *H. pylori* enfeksiyonunun saptanması için en yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü sunduğundan pratik tanısal “altın standart” olarak kabul edilir ve bakterilerin dağılımının yanı sıra ilgili mikroskobik lezyonlar ve topografik durumla ilgili ek bilgiler sağlar.

Rutin kullanım için en sık kullanılan histokimyasal boyama, sırasıyla %69-93 ve %87-90 duyarlılık ve özgüllük sağlayan hematoxilen ve eozindir (H&E). Enflamasyonun görselleştirilmesi H&E ile çok tatmin edici olsa da, atrofik epitel ve düşük yoğunluklu *H. pylori* olan vakalarda *H. pylori* tespiti zor olabilir. Modifiye Giemsa, Warthin-Starry gümüş, Gimenez, McMullen, Dieterle ve Genta boyama dahil

olmak üzere özel histokimyasal boyama teknikleri veya immünohistokimya (IHC) kullanılarak, özgüllük %90-100'e çıkartabilmektedir. Dieterle ve Genta boyaması gümüş boyasını, H&E ve Alcian mavisini birleştirir ve hem *H. pylori*'nin görselleştirilmesi hem de inflamasyonun skorlanması avantajını sunar. Genel bir kural olarak, *H. pylori* enfeksiyonu tanısının doğrulanması için 2 farklı boya kullanılmalıdır.

Modifiye Giemsa boyası, *H. pylori*'nin saptanması için rutin bir özel boyama olarak bilinmekte ve basitliği, düşük maliyeti ve tutarlı sonuçları nedeniyle dünya çapında tanınmış ve yaygın hale gelmiştir. Modifiye Giemsa ile boyama yapıldığında yanlış negatif sonuç riskinin yakın zamanda gastrik adenokarsinomlu hastalarda ve ayrıca, yüzeysel epitel hücrelerinden daha derin tabakalara *H. pylori* göçü nedeniyle tipik olarak düşük (<7.45 ng/mL) serum pepsinojen II seviyesi olarak tanımlanan, gastrik salgılama kabiliyeti zayıf olanlarda arttığı gösterilmiştir. Aksi takdirde, antibiyotiklerin, bizmut içeren bileşiklerin veya ÜFE'lerin kullanımı dahil olmak üzere zayıf bakteri tespiti için risk faktörleri mevcut olduğunda yanlış negatif testler meydana gelebilir. Yanlış negatif sonuçların en yaygın 2 nedeni, yukarıda belirtilen PPI kullanımının yanı sıra, *H. pylori* kolonizasyonu için özellikle “düşmanca” bir mikro ortam olan bağırsak metaplazisinin varlığıdır. H2-reseptör antagonistleri bakteri yoğunluğunu etkilemez, ancak günümüzde neredeyse hiç kullanılmamaktadır. Yanlış pozitif sonuçlar çok daha az sıklıkta görülür ve genellikle sadece aklorhidri veya hipoklorhidri ortamlarında bulunan *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* veya *Staphylococcus capitis ureolyticus* gibi diğer üreaz üreten mikroorganizmalardan kaynaklanır. Duyarlılığı artırmak için, özellikle yakın zamanda veya sistematik antibiyotik veya ÜFE kullanımı öyküsü olan hastalarda hem korpustan hem de antrumdan biyopsi alınmalıdır.

IHC aracılığıyla, günlük olarak pratik olmasa da, morfolojik olarak benzer şekilli mikroorganizmalar ekarte edilebilir. Bu nedenle, kullanımı özel durumlar için saklanmalıdır: a) ilgili inflamasyonun varlığına rağmen H&E ve Giemsa boyamasından sonra hiçbir *H. pylori* bakterisi bulunmaz ise ; b) MALT-lenfoma tedavisinden sonra, başarılı *H. pylori* eradikasyonunu kanıtlamak için; ve c) mikroorganizmalar kesinlikle morfolojik olarak *H. pylori* olarak sınıflandırılmazsa. Alınan biyopsilerin anatomik topografisi ile ilgili olarak, inflamasyon paternini belirlemek için mide korpusunun dahil edilmesi gereklidir. Bununla birlikte, en yüksek derecelerde gastrik atrofinin yanı

sıra intestinal metaplazi ve displazi, incisura angulariste sürekli olarak tespit edilir. Gastritin sınıflandırılması için Sydney derecelendirme sistemi ve onun güncellenmiş Houston versiyonu kullanılmaktadır^{369, 376-378}. Histolojik yöntemin bazı dezavantajları kabul edilmelidir: a) yüksek maliyetle birlikte geçen süre (en az 2-3 iş günü); b) patolog uzmanlığına ve gözlemciler arası değişkenliğe bağımlılığı; ve c) PPI'ların ve antibiyotiklerin kullanım sonrası *H. pylori*'nin spiralden kokoid forme dönüşmesi ve bu nedenle yukarıda bahsedilen rutin tekniklerle yeterince saptanamaması. Ancak buna rağmen, ikinci problem floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile aşılabılır³⁷⁶.

H. pylori enfekte kişilerde devam eden mide inflamasyonu ve şiddeti, mide onkogenezinin en kritik habercileridir. Hem histopatoloji hem de polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) çok yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğundan⁷⁸, genellikle Sydney sınıflandırması ile değerlendirilen kronik mide iltihabının derecesi ve duyarlılık yaratan durumlar (atrofik gastrit, bağırsak metaplazisi, displazi) mide kanseri gelişimine, henüz noninvaziv testlerle değerlendirilemez ve üst gastrointestinal endoskopik biyopsiler gerektirir³⁷⁹.

2.10.2.1.3. Kültür

H. pylori kültürünün iki büyük avantajı vardır. birincisi, antimikrobiyal duyarlılık testine izin vermek ve ikincisi, kültürle elde edilen izolatları ayrıntılı olarak karakterize edilebilmektir. Kültürün deneyimli laboratuvarlarda duyarlılığı %95'ten fazla olmasına rağmen, *H. pylori* enfeksiyonunun tanısı için diğer yöntemlerin daha basit, daha az değişkenliğe yatkın ve daha kısa sürede yapılabilmesinden dolayı kültür çok fazla tercih edilmemektedir. Gastrik biyopsi örneklerinden yapılan kültür tipik olarak en yüksek *H. pylori* verimini sağlamaktadır. Bununla birlikte, yapılan bazı çalışmalarda dışkıdan ve mide suyundan yapılan başarılı kültürlerde rapor edilmiştir^{380, 381}. Sydney sınıflandırmasına göre, klinisyenlerin gastritli hastalarında pozitif bakteriyel enfeksiyonu doğru bir şekilde belirlemek için en az üç biyopsi (ön ve arka korpustan iki biyopsi ve bir antrumdan biyopsi) almaları gerekmektedir.

H. pylori, mikroaerofilik koşullar altında birçok katı ortamda yavaş üreyebilmektedir. Genel bir kural olarak, *H. pylori*'nin agar üzerinde optimal şekilde üremesi için kan veya parçalanmış kan supplementlerine gereksinim duymaktadır. Günümüzde Wilkins Chalgren agar, Beyin kalp agar ve Columbia ve Brucella agarlar,

rutin olarak *H. pylori* tanısında en çok kullanılan temel besiyerleridir. Gram pozitif mikroorganizmalar, mantarlar ve mayalar dahil olmak üzere mikroorganizmaları kontamine etme riskinin yüksek olması nedeniyle, seçici besiyeri kullanmak, petrilerde tipik *H. pylori* kolonilerinin üremesi için bir kural haline gelmiştir³⁸². *H. pylori*, koloni morfolojisi temelinde tanımlanır (boyutları çıplak gözle zar zor saptanabilenden yaklaşık 3 mm'ye kadar değişen yarı saydam koloniler); koloniler, üreaz, katalaz ve oksidaz pozitif olan gram negatif, spiral (genellikle sarmal olmayan) çubuklardan oluşmaktadır. *H. pylori* kültür agar ortamında Tetrazolyum tuzlarının eklenmesi kolonilerinin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır²².

Duyarlılığı ve özgüllüğü artırmak için PPI, antibiyotik ve antisekretuar ilaç tüketimi hastalarda 3 aydan kısa sürede endoskopik cerrahi yapılması önerilmiştir³⁸². Biyopsi forsepslerinin formaldehitte, önceden bekletilmesi kültürdeki organizmaların üremesini olumsuz etkilediği görülmese de³⁸³, kültür için biyopsi örneklerinin başlangıçta alınması önerilmektedir (histoloji veya diğer testler için örnek almadan önce). Tuzlu su, basit olarak kabul edilebilsede kısa süreli (6 h) bir taşıma besiyerisi olarak kullanılmaktadır^{384, 385}. Eğer hemen Kültür yapılmayacaksa, Stuart besiyeri veya supplementli beyin kalp infüzyon brot gibi kompleks besiyerleri kullanılmalıdır³⁸⁴. Biyopsi örneklerinin -70°C'de uzun süreli saklanması için gliserol içeren besiyeleri kullanılabilir veya steril boş bir eppendorf tüpte -70°C'de hemen dondurulabilir³⁸⁶.

2.10.2.1.4. Moleküler Tanı Testleri

Gerçek zamanlı PCR'a dayanan moleküler yöntem, düşük bakteri miktarı durumunda bile bakteri DNA'sının varlığını ortaya çıkararak yeni teknolojiyi kullanan, nadiren kullanılan bir tanı yöntemidir. Bu test invaziv (gastrik biyopsiler) ve non-invaziv (tükürük veya dışkı) olarak yapılabilir ve özel taşıma gerektirmez. Epidemiyolojik çalışmalarda, genotiplendirmede ve antibiyotik direnç için önemli olarak görülmektedir. UreA, glmM, ureC, 16SrRNA, 23SrRNA, hsp60 ve vacA gibi genler, *H. pylori*'nin tanısı için kullanılmaktadır. Antibiyotik tedavisinden sonra kalan genetik materyalin yanlış pozitif sonuç vermesi bir sınırlama olarak görünmektedir. PCR yöntemi Bir tanı testi olarak genellikle kullanılması klinik uygulamada kullanılmamaktadır. Ayrıca, PCR hem canlı hem de ölü bakterilerden DNA'yı tespit edebilmekte ve bu da yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir. Spesifik olarak, yüksek

antibiyotik direnci ve/veya eradikasyon başarısızlığı olan bölgelerde eradikasyon rejiminin seçiminde yardımcı olabilecek makrolidlere direncin incelenmesi için uygundur. Bu testin avantajlarından biri, direnç testi için bakteri kültürü ile karşılaştırıldığında olumsuz koşullara daha az duyarlı olmasıdır. Ayrıca diğer tanı yöntemlerine kıyasla akut kanama durumlarında *H. pylori*'yi daha iyi tespit edebilen nispeten basit, hızlı ve otomatik bir prosedürdür ³⁶⁹.

2.10.2.2. Non-İnvaziv Testler

2.10.2.2.1. Üre Nefes Testi (UBT)

UBT *H. pylori* tanısı için mevcut kullanımdaki yüksek hassasiyetli (%94'e kadar) güvenli, kullanışlı, kesin ve uygun maliyetli en önemli non-invaziv test yöntemlerinden biridir. Ayrıca, tüm non-invaziv yöntemler gibi, konvansiyonel endoskopi ve daha sonra alınan biyopsi örnekleri için kontrendikasyonları olan hastalar için uygundur. Hastalara, mide boşalmasını engelleyen ve süresini uzatan sitrik asit veya gıda takviyeleri gibi maddelerle takviye edilmiş, zenginleştirilmiş karbonlu (13C veya 14C) öğün yemeği verilir ve CO₂ konsantrasyonu daha sonra solunan havada ölçülür. Ekshale edilen 13CO₂, ofiste hızla sonuç veren kütle spektrometrisi ile ölçülürken, 14CO₂'nin nükleer tıp laboratuvarı tarafından işlenmesi gerekir. 14C'nin radyasyona maruz kalması bir kişinin günlük radyasyon maruziyetiyle karşılaştırılabilir olmasına rağmen 13C'nin zararsız olduğu için çocuklar ve hamile kadınlar için tercih edilir ^{369, 387, 388}. *Helicobacter heilmannii* gibi üreaz pozitif bir bakterinin mikrobiyom ortamında olması, oral flora ve/veya aklorhidride ile kontaminasyonu diğer *H. pylori* türlerinden (örn., *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus*) farklı bakterilerin üremesinin inhibe olmaması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar verebilir. *H. pylori* eradikasyonu için rapor edilen Antibiyotikler, bizmut bileşikleri ve PPI'ler kullanım sonrası *H. pylori* gastrik çeşitliliğindeki azalma yoluyla yanlış negatif test sonuçları ortaya çıkabilir. Spesifik olarak, aktif gastrointestinal kanama durumunda ve bahsedilen bizmut içeren bileşiklerin, antibiyotiklerin veya antisekretuar ilaçların son zamanlarda kullanımında duyarlılık azalması meydana gelir ^{389, 390}. Bu nedenle antibiyotiklerin ve bizmut içeren bileşiklerin testten en az 4 hafta önce sonlandırılması önerilir. Benzer şekilde, PPI'ler ve H₂-reseptör antagonistleri, testten en az 2 hafta önce kesilmelidir. Alüminyum hidroksit gibi bizmut içermeyen antasitler test sonuçlarını

etkilemiyor gibi görünmektedir ³⁸⁹. Gastrik korpusta *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda bile, 13C-UBT ile test yapıldığında daha yüksek oranda yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir ³⁶⁹. Son veriler, 13C UBT tanı testinin dışkı antijen testinden (SAT) daha duyarlı ve kesin görüldüğünü ve ayrıca eradikasyon rejiminin başarısını değerlendirmede SAT ile karşılaştırılabilir bir sonuç gösterdiğini göstermektedir ³⁹¹. *H. pylori* ile ilişkili gastrik maligniteyi saptamak için UBT'nin potansiyel faydasına ilişkin çelişkili kanıtların mevcut olduğuna dikkat etmek önemlidir. Bazı çalışmalar, UBT değerinin mide kanserinin duyarlı bir belirleyicisi olmadığını ve düşük değerlerin mide kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir; gastrit ve peptik ülser ile karşılaştırıldığında, mide kanserli hastalarda UBT değerleri önemli ölçüde daha düşüktür ^{392, 393}. Bununla birlikte, diğer çalışmalar, 14C-UBT'nin, mide kanserinin hangi evresinde olursa olsun, *H. pylori* oluşumunu saptamak için oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir; *H. pylori* mide kanserli hastaların %98'inde görünür (UBT ile pozitif) ve aktif *H. pylori* enfeksiyonu UBT tarafından tahmin edildiği gibi erken ve ileri mide kanserinde ortaya çıkar ³⁹⁴. Bu nedenle, *H. pylori* eradikasyonuna eşlik eden yan etkiler olmaksızın mide kanseri insidansını önemli ölçüde azalttığından, UBT klinisyenlere bu yüksek riskli hasta grubunu bu hazır ve non-invaziv test ile indirekt olarak tespit etme yeteneği sunabilir. Ayrıca UBT, diğer gastroduodenal patolojilerin yanı sıra mide kanseri için endoskopi öncesi bir tarama testi olarak da düşünülebilir. Bu nedenle, çelişkili veriler ışığında, bu önemli konuyu açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır ³⁶⁹.

2.10.2.2.2. Dışkıda Antijen Arayan Testler (SAT)

SAT, sıklıkla kullanılan ek bir non-invaziv yöntemdir. UBT gibi, SAT da *H. pylori* tespiti için güvenli, kullanışlı, kesin ve uygun maliyetli bir yöntemdir ve her iki yöntemde %90'ı aşan yüksek duyarlılık ve özgüllüklere sahiptirler. SAT poli- veya monoklonal anti-*H. pilori* antikorları kullanarak dışkı örneklerinde *H. pylori* antijenlerini tanımlayan enzim immünoanalizleridir. Monoklonal antikorlara dayalı testler, daha eski olan poliklonal bazlı testlere göre, tanısal doğruluk açısından üstündür. Kullanımlarını etkileyebilecek konular arasında dışkı örneklerinin taşınması ve depolanmasının lojistiği, bölgelere göre geri ödemelerin değişkenliği ve test kullanılabilirliği sayılabilir ³⁶⁹. Özellikle dışkı örnekleri oda sıcaklığında 24 saat

saklanabilir. Daha uzun saklama için (72 saate kadar) sıcaklık 4°C'yi geçmemelidir, aksi takdirde hassasiyeti azalacaktır. Ek olarak, kanayan ülserler dahil olmak üzere gastrointestinal hastalıklar ve PPI tedavisi, testin duyarlılığını azaltabilir³⁹⁵. Bu nedenle test en az 2 hafta ertelenmelidir. Bakteri sayısını azaltan bizmut içeren ilaçlar veya antibiyotikler de UBT için belirtildiği gibi yanlış negatif sonuçlara yol açabilir³⁹⁶. Son çalışmalar, otomatik kemilüminesans testinin (LIAISON), histoloji, kültür ve RUT ile karşılaştırıldığında iyi sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Bu test, bir monoklonal antikor sandviç yöntemi ve kemilüminesans immünolojik test teknolojisi kullanmaktadır. Daha önce kullanılan monoklonal antikor bazlı testlerde %80'i aşan duyarlılık ve özgüllüğe kıyasla, LIAISON için %95.5'lik bir duyarlılık ve %97.6'lık bir özgüllük elde edilmiştir³⁹⁷.

Alternatif tekniklerle yeni testler de geliştirilmektedir. Yeni bir yaklaşımda, *H. pylori* immünomanyetik boncuklar tarafından tespit edilmiştir. *H. pylori*'ye yüksek hassasiyetle bağlanan ve bir poliklonal antikor konjuge edici kuantum nokta probuna konjuge olan monoklonal antikorlar içerir ve tespit, bir floresan spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilir³⁹⁸. Prosedürün teşhis doğruluğu ve şu anda kullanılan test stratejileriyle karşılaştırması konusunda daha ileri çalışmalar gereklidir.

Gastrik malignite ile ilgili olarak, yüksek riskli bireylerde *H. pylori* taraması ve tedavisi, mide kanseri ve peptik ülser hastalığının yükünü azaltmak için uygun maliyetli bir strateji olarak önerilmiştir^{399, 400}. Bu açıdan, SAT kullanımı en uygun maliyetli tarama yaklaşımını temsil edebilir⁴⁰¹. Ayrıca mide kanseri nedeniyle distal gastrektomi geçirmiş hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun tanısında SAT en güvenilir noninvaziv yaklaşım olabilir⁴⁰². Mide kanseri hastalarının, mide kanseri olmayanlara kıyasla 6 kat *H. pylori* dışkı yükü gösterdiğine dikkat edilmelidir⁴⁰³. Bu nedenle, *H. pylori* ile ilişkili mide kanserinin optimal yönetimi için en uygun maliyetli tarama yaklaşımını belirlemek için SAT ve diğer non-invaziv yöntemleri içeren daha fazla karşılaştırmalı çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.10.2.2.3. Seroloji

Seroloji *H. pylori* İmmünoglobulin G (IgG) antikorlarının tahminine dayalı bir yöntemdir ve biyopsiye bağlı non-invaziv testlerle aynı yüksek tanısal doğruluğu paylaşmaktadır ancak, aktif ve geçirilmiş *H. pylori* enfeksiyonu arasında ayırım

yapılmasına izin vermemektedir. Buna karşın yüksek anti-*H. pylori* IgG antikor titreleri, gastrit derecesi ve mukozal *H. pylori* yükü ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle yüksek serum anti-*H. pylori* antikor titresi, aktif enfeksiyonu olan hastalarda *H. pylori* yükünün indeksi olabilmektedir. Ek olarak, serolojik testler mide fonksiyonel parametrelerinin (yani pepsinojenler, gastrin), özellikle şiddetli atrofi varlığı olmak üzere mide mukozası değişikliklerinin tahminine izin verebilmektedir. Anti-*H. pylori* antikorlarının izolasyonu, ELISA veya immünoablottama yöntemiyle gerçekleştirilir; farklı epitopik hedefleri tanıyan çok sayıda kitler ticari olarak bulunmaktadır [110], en yaygın olarak anti-CagA, ardından anti -VacA, -UreB, -UreC, -HspB, -FlaA, -FlaB, -CagII ve -CagC kullanılmaktadır. dışkı toplama ve UBT prosedürlerine kıyasla Venipunktür kolay olmasının yanı sıra, mevcut kitler, en azından belirli popülasyonlarda sırasıyla %97.6 ve %96,2 duyarlılık ve özgüllük ile yüksek tanı oranları sağlar ^{369, 404, 405}. *H. pylori* antijen sekanslarındaki bölgesel farklılıklar ile birleşen kitler arasındaki heterojenlik, özellikle popülasyona dayalı doğrulama yapılmadığında serolojik testlerin performansını etkileyebilmektedir. Bu doğrultuda, mevcut devam eden göç hareketlilikleri, antikor bazlı *H. pylori* tanısında önemli bir sorumluluk oluşturabilir ve dolayısıyla popülasyona dayalı tekniklerin periyodik olarak yeniden doğrulanmasını gerektirebilir. Serolojinin en büyük dezavantajı eradikasyon tedavi sonuçlarının değerlendirilememesidir. Bununla birlikte, daha fazla doğrulama gerekmesine rağmen erken veriler, *H. pylori* tedavisinden 6-21 ay sonra serum antikor titrelerinde %20-25'lik bir azalmanın eradikasyon başarısını oldukça hassas bir şekilde (%93) öngörebileceğini göstermiştir ^{406, 407}. Öte yandan, yoğun *H. pylori* enfeksiyonuna bağlı inflamasyonda eksprese edilen CD14+CD163+CD206+ ve CD14+CD163+CD209+, *H. pylori* eradikasyonundan sonra önemli ölçüde azaldığından, dolaşımdaki monosit alt popülasyonları tedavi sonucu ile ilişkili görünmektedir. Maliyetli olmasına rağmen, başarılı tedavi için oldukça umut verici bir serolojik indeksi sağlar ⁴⁰⁸. Ayrıca, seroloji, glokom gibi *H. pylori* enfeksiyonuna bağlı gastrik ve ektragastrik komplikasyonların riskini indirekt olarak değerlendirebilir ⁴⁰⁹. Gastrik atrofiyi yorumlayan Anti-*H. Pylori*'nin, serum pepsinojenli (PG) antikor ile kombinasyon incelemesi, “ABC yöntemi” olarak adlandırılan ek bir tanı aracı sağlar ; PG ve gastrin ile birlikte UBT testi gastrik atrofiyi değerlendirmede önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir ^{410, 411}.

2.11. *H. Pylori* Enfeksiyonlarının Tedavisi

2.11.1. Genel Tedavi Yaklaşımları

H. pylori enfeksiyonunun tedavisi için genel olarak dünya çapında kabul edilmiş bir tedavi rejimi yoktur. Ancak yöntemlerin hepsi enfeksiyon sürecinden zarar gören mukozanın gerileyen semptomatolojisini ve iyileşmesini hedeflemektedir. 1997 Maarstricht konferansından bu yana, standart dozda proton pompa inhibitörleri (PPI), klaritromisin (500 mg) ve amoksisilin (1 g) 7 gün boyunca günde iki kez standart üçlü tedavi, çoğu ülkede *H. pylori*'yi yok etmek için birinci basamak tedavisi olarak kullanılmaktadır. Tedavi Rejimine bizmut (120 mg) ilavesiyle dördümlü tedavi de birinci basamak tedavi olarak kullanılmaktadır. Ancak prevalansı zamana ve coğrafi bölgeye göre değişen klaritromisine karşı mikrobiyal dirençteki artış, tedavi rejiminde değişikliklere yol açmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde azitromisin ve eritromisinin rasgele kullanımı ve makrolid antibiyotikler arasındaki çapraz direnç, klaritromisine karşı artan mikrobiyal dirençten sorumlu olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak, *H. pylori* eradikasyonu için daha uzun terapötik rejimler kullanılmalıdır. Klaritromisin direncinin yüksek olduğu bölgelerde, 5 gün süreyle günde iki kez PPI, klaritromisin ve amoksisilin ile birlikte metronidazol (500 mg) eklenmesi, dördümlü bir tedaviyi karakterize eder%90'dan daha yüksek bir tedavi amacı ile tedavinin etkinliğini artırır. Ayrıca klaritromisin direncinin %15-20'nin üzerinde ve kinolon direncinin %10'un altında olduğu bölgelerde üçlü tedavide klaritromisin yerine levofloksasin (250/500 mg) kullanılabilir. Böyle bir yöntem, tedavi protokolünün başarı oranını ve tedavi amaçlı eradikasyon oranlarını artırdığı düşünülmektedir^{144, 412-414}. Ayrıca bazı ülkelerde standart yaklaşımlara alternatif olarak hibrit tedavi kullanımı önerilmiştir. Bu tedavi yönteminde, 14 gün boyunca PPI ve amoksisilin verilmesini ve ardından son 7 günde dördümlü bir tedavi olarak hem klaritromisin hem de nitroimidazolün eklenmesini içermektedir. Son olarak, böyle bir durumla karşı karşıya kalama durumunda, çalışmalar, olası yeni bir birinci basamak tedavi olarak kişiye özel tedavinin kullanılmasını önermektedir. Bakteri suşlarının farklı antibiyotiklere duyarlılığını belirlemek için yapılan duyarlılık testi, bakteri eradikasyonu için önemli bir alternatif olarak görünmektedir.

Probiyotikler birçok gastrointestinal enfeksiyonun önlenmesinde ve tedavisinde kullanılmaktadır, bu nedenle *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde yararlı olabileceği inanılmaktadır ^{144, 415}. Probiyotiklerin bu amaçla kullanımına ilişkin araştırmalar tipik olarak antibiyotikli ve antibiyotiksiz tedaviler olarak ikiye ayrılmaktadır ve literatürdeki mevcut veriler halen tartışmalıdır ⁴¹⁶. probiyotiklerin bu enfeksiyon eradikasyonundaki rolü tam olarak belirlenmemiş ve konsolide edilmemiştir ve farklı mikroorganizma türlerinin, dozlarının ve araştırma yöntemlerinin kullanılması bu tür belirsizliklere katkıda bulunmaktadır ¹⁴⁴.

2.11.2. Antibiyotik Direnci

H. pylori enfeksiyonu için ilk seçenek olarak kabul edilen (metronidazol ve klaritromisin gibi) tüm terapötik rejimlere dahil edilen antibiyotiklerin, başka enfeksiyonlar için birçok alanda yaygın kullanımları nedeniyle şimdi etkinlikleri azalmaktadır.

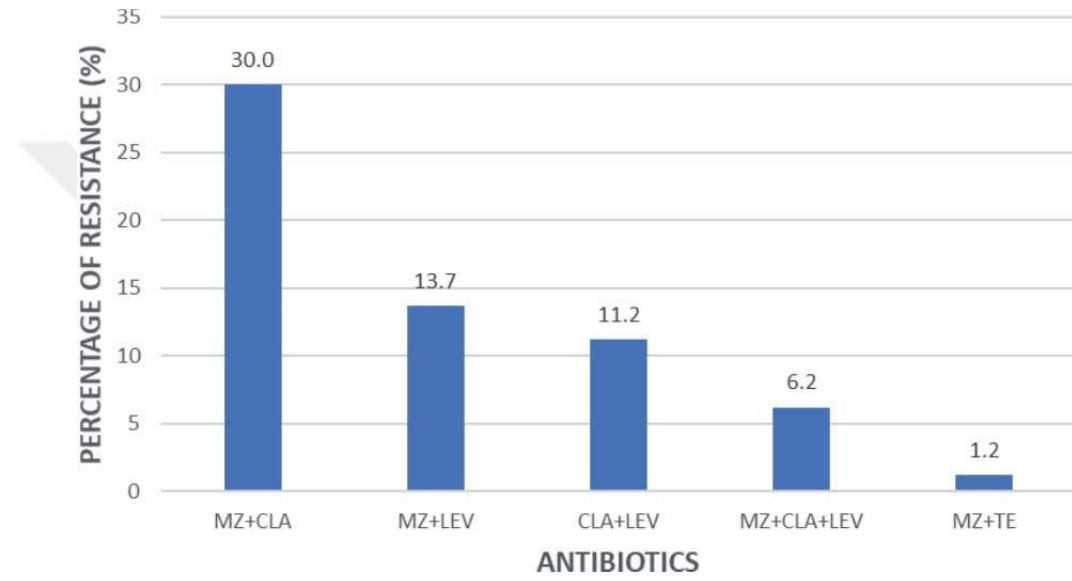
Metronidazol (MZ) çoğunlukla dünya çapında çok yüksek bir direnç göstermektedir ve Çin'de %78,2'ye varan bir seviyeye ulaşmıştır ⁴¹⁷.

Klaritromisin (CLA) direnç oranları İtalya ve Japonya'da %30, Türkiye'de %40 ve Çin'de %70'den fazla gibi yüksek seviyelere ulaşmıştır, ancak İsveç, Tayvan ve Almanya'daki oranlar daha düşüktür ⁴¹⁸. CLA, bir zamanlar *H. pylori* enfeksiyonu için en güçlü antibiyotik olarak biliniyordu. CLA direncinin yerel paterni, CLA direncinin %15-20'nin üzerinde olduğu ülkelerde bu ilacın kullanılmaması gerektiği düşünüldüğünde, her alanda çok önemli olarak ortaya çıkmaktadır. CLA'ya dirençli *H. pylori* kapsamlı bir şekilde incelenmiştir: birçok coğrafi bölgede yaygınlığı giderek daha yüksek hale gelmiştir.

Florokinolon (en yaygın florokinolon Levofloksasin LEV'dir) direnci son yıllarda dünya çapında artmakta olup İtalya'da %20, Almanya'da %13,3 ve Çin'de %19,2'ye ulaşmaktadır ^{417, 419}. Bu veriler özellikle levofloksasin bazlı bir tedavi planlayan bölgelerde önemlidir çünkü florokinolonlara direnç genellikle tedavinin başarısı üzerinde büyük bir etki gösterir ⁴²⁰.

80 biyopsi örneğinden izole edilen 80 *H. pylori* suş üzerinde yapılan bir çalışmada, direnç yüzdesi fenotipik olarak MZ, CLA, LEV, TE (tetrasiklin) ve AMX (amoksisilin) MIC değerleri aracılığıyla ölçülmüştür. aşağıdaki gibi sonuçlanmıştır:

%61.6 (50/80), %35 (28/80), Sırasıyla %20 (16/80), %2,5 (2/80) ve %1,25 (1/80). MIC'ler (Minimum İnhibitör Konsantrasyonları), genel olarak MIC = 256 µg/mL olan üç suşu gösteren MZ'ye ve 64 µg/mL ile 128 µg/mL arasında değişen MIC'ye sahip dört suşu gösteren CLA'ya göre çok yüksek olarak sonuçlandı. LEV'ye gelince, MİK 0,25 µg/mL ile 32 µg/mL arasındaydı (sadece bir suş, 32 µg/mL'ye eşit bir MİK gösterdi) ⁴²¹. Çoklu ilaç direnci (iki veya daha fazla antibiyotiğe eşzamanlı direnç) Şekil 2.3'te rapor edilmiştir.



Şekil 2.4. *Helicobacter pylori* suşlarında fenotipik antibiyotik direncinin oranı ⁴²¹

Kısaltmalar: MZ: metronidazol; CLA: klaritromisin; LEV: levofloksasin; TE: tetrasiklin

2.11.3. Aşı Çalışmaları

Aşıların geliştirilmesi, enfeksiyonun profilaksisini ve/veya tedavisini hedefleyen umut verici bir alternatiftir [101]. Son zamanlarda, çalışmalar biyoinformatik yardımıyla reverse aşıların geliştirilmesine odaklanmıştır ve potansiyel aşılarından beş antijenik epitopa öncelik verilmiştir: babA, sabA, fecA, vacA ve omp16 ⁴¹².

Bununla birlikte, deneysel modellerde pek çok çalışma başarılı olmadığı için, bunların gelişimi *H. pylori* alanında büyük bir zorluğa sebep olmuştur. Buna karşılık, Çin'de çocuklarla, *H. pylori*'ye karşı rekombinant B üreaz içeren oral aşılar sağlamada etkili ve güvenli olan, randomize bir faz 3 çalışması yapılmıştır ⁴²². Ancak uzun vadeli etkisinin daha doğru bir şekilde değerlendirmesi gerekmektedir. Başka bir çalışmada, intramüsküler uygulama, çoklu epitoplulu aşının oral uygulaması ile karşılaştırılmıştır ve oral uygulama ile daha iyi bir koruma oranı kanıtlanmıştır ⁴²³. Nanoaşının gelişimi de

araştırılmaktadır ve *H. pylori* enfeksiyonuna karşı etkili bir immünolojik yanıtı tetiklemede iyi bir alternatif olma konusunda g   l  bir potansiyel sunmaktadır ^{413, 424}.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması

Bu amaçla bölgemizdeki yataklı tedavi kurumlarına üst GİS yakınması ile başvuran ve tanı amaçlı olarak endoskopi eşliğinde 200 hastadan alınan antrum ve/veya korpus mide biyopsi örnekleri ve bu örneklerden izole edilen *H. pylori* suşları dahil edildi. Hasta biyopsi örnekleri moleküler yöntemler ile, hem *H. pylori* ureC geni varlığı yönünden hem de *H. pylori*'ye bağlı çeşitli GİS patolojilere eşlik eden IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 genlerinin polimorfizmini belirlemek için kullanıldı. Kontrol grubu olarak da her hangi bir üst GİS yakınması olmayan 50 gönüllüden alınan tam kan örneklerini kullanıldı. Çalışma hasta grubu ve kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılarak gerçekleştirildi.

Hastaların antrum ve/veya korpus mide bölgelerinden alınan 2 biyopsi örneğinden biri primer *H. Pylori* tanısı için üreli buyun içeren kapaklı steril ependorf tüplere aktarıldı ve 24 saat 37 °C sonuçlana kadar inkube edildi daha sonra TE solüsyonu içeren kapaklı steril ependorf tüplere aktarıldı alınan ikinci mide biyopsi örneğine ise TE solüsyonu içeren kapaklı steril ependorf tüplere alınarak buz aküleri yardımı ile soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı. örnekler işleninceye kadar laboratuvarda –20 °C de muhafaza edildi. Kontrol kan örnekleri EDTA içeren tüplere 3-5 ml kadar alındı ve çalışılana kadar –20 °C de muhafaza edildi. Laboratuvarda kontrol kan örnekleri ve biyopsi örnekleri numaralandırılarak kayıt altına alındı.

3.2. Çalışma Dizaynı ve Moleküler Uygulamalar

Elde edilen mide biyopsi örneklerinden konak ve bakteriyal DNA, Roche High Pure PCR Template Preparation Kit ile firmanın talimatları doğrultusunda izole edildi ve DNA miktarı NanoPhotometer N50 IMPLN ile Ölçüldü. Ekstraktlarda, *H. pylori* genom varlığını araştırmak için *glmM* primer çifti (*ureC*) kullanılarak PCR yöntemi ile doğrulama yapıldı. Serumdan DNA ekstraksiyonu için ticari bir genomik DNA izolasyon kiti olan Hibrigen Blood DNA Isolation kit MG-KDNA-02-50 ile firmanın talimatları doğrultusunda izole edildi ve DNA miktarı NanoPhotometer N50 IMPLN ile ölçüldü. İzole edilen genomik DNA'lar PCR-RFLP yöntemi ile polimorfizmin tespit edilmesinde kullanıldı.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primer çiftleri ve hedef gen uzunlukları

Primer	Dizi	Amplikon Uzunluğu
	F 5'-AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT-3'	
glmM (ureC)	R 5'-AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC-3'	294bp
	F 5'-TTGTCAAGACATGCCAAAGTG-3'	
IL-6_174	R 5'-TCAGACATCTCCAGTCCTATA-3'	300bp
	F5'-TTCTAACACCTGCCACTCTAG-3'	
IL-8_251	R 5'-CTGAAGCTCCACAATTTGGTG-3'	108bp
	F 5'-ATCCAAGACAACACTACTAA-3'	
IL-10_819	R 5'-TAAATATCCTCAAAGTTCC-3'	588bp
	F 5'-AACAAGTAAGAATGAAAAGAGGACATGGT-3'	
IL-17A	R 5'-CCCCCAATGAGGTCATAGAAGAATC-3'	102bp
	F 5'-CCAAGTTTAATCATAGCTCCTTATAG-3'	
IL-19	R 5'-GGTTCTTAGATCTCACACAGG-3'	170 bp

3.2.1. Biyopsi Örneklerinden DNA İzolasyonu

H. pylori DNA'sının ekstraksiyonu için Roche High Pure PCR Template Preparation Kit (LOT NO:58440400, REF:11796828001) kiti kullanıldı.

Ekstraksiyon üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

Kit içeriği aşağıdaki gibidir:

Roche spin columns, collection tüpleri (2ml), Doku Lizis Tamponu, Binding buffer, Inhibitor Removal, Wash Buffer, Elution Buffer, Proteinaz K.

1. Mideden alınan yaklaşık 25-50 mg doku örnekleri, içerisinde bulundukları TE solüsyonundan alındı ve sıvı kısım uzaklaştırılarak 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere aktarıldı.
2. Bunların üzerlerine 200 µl Doku Lizis Tamponu ve 20 µl pK (proteinaz K) eklenip vortekslendi ve enzimin optimum çalışma ısısı olan 55°C'de 1-2 saat

bekletildi. İnkübasyondan sonra kısaca santrifüj edilerek tamamen homojen olması sağlandı.

3. Üzerine 200 µl Binding buffer eklenip +70°C'de 10 dakika inkübe edildi ve vortekslendi. Üzerine 100 µl soğuk izopropanol eklenip 15 sn vorteks yapıldı.
4. Roche spin kolon ve 2 ml'lik toplama tüpü birleştirildi ve Karışım spin kolonlara kenarlarını ıslatmadan boşaltıldı ve 8000 x G'de 1 dk. santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, sıvı dolu olan tüp atıldı.
5. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl Inhibitor Removal buffer eklenip 8000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, sıvı ile dolu olan tüp atıldı.
6. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl Wash Buffer eklenip 8000 x G'de 1 dk santrifüj edildi.
7. Yıkama işlemi bir kez daha tekrarlandı. sıvı ile dolu olan tüp atıldı ve spin kolon son hızla 10 sn santrifüj edildi ve tamamen sıvının geçmesi ve filtrenin kuruması sağlandı.
8. Spin kolon yeni temiz bir 1,5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı. Üzerine +70'de önceden ısıtılmış 200 µl Elution Buffer eklendi ve oda ısısında 1 dk bekletilip, 8000 x G'de 1 dk santrifüj edildi.
9. Spin kolon atıldı ve böylelikle eksrakte edilmiş DNA tüpte kaldı. ekstre edilen kalıp DNA, çalışmada kullanılabilecek kadar -20/-70°C'de muhafaza edildi.

3.2.2. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

EDTA ile temin edilen 3-5 cc periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu için Hibrigen Blood DNA Isolation kit (LOT NO: 0222-OY-2081 REF: MG-KDNA-03-50) kullanıldı. İzolasyon aşamaları üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

Kit içeriği aşağıdaki gibidir:

Hibrigen spin columns, collection tüpleri (2ml), Buffer DP, Buffer DA, Buffer DB, Buffer DY, Buffer DE

1. 400 µl koagüle olmamış total kan 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı. 800 µl DP Tamponu total kanın üzerine eklendi ve pipetaj yapılarak homojen hale getirildi.
2. DP Tamponu ile homojen hale getirilen örnekler 2-3 dk oda sıcaklığında tüpler belirli aralıklarla ters düz edilerek bekletildi . Daha sonra 4.250 x G'de 5 dk santrifüj edili ve Süpernatant kısmı atıldı.
3. Pelletin üzerine 200 µl DA Tamponu eklendi ve Pipetaj yapılarak pelletin parçalanması sağlanarak homojen bir görüntü oluşana kadar vortekslendi.
4. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 220 µl DB Tamponu eklendikten sonra 65 ° C de 20 dk inkübasyona bırakıldı . İnkübasyon esnasında birkaç dakika ara ile tüpler ters düz edildi.
5. İnkübasyon bitiminde örneklere 220 µl önceden soğutulmuş etanol eklenip vortekslendi ve karışım filtreli tüplere alındı, 10.900 x G'de 2 dk santrifüj edildi ve filtreden geçerek alt kısımda toplanan sıvı döküldü.
6. Filtrenin üzerine 500 µl DY Tamponu eklendi 10.900 x G'de 1 dk santrifüj edilir . Filtrenin alt kısmında toplanan sıvı boşaltıldı.(Bu aşama 2 kez uygulandı).
7. Filtre herhangi bir reaktif eklenmeden boş olarak 10.900 x G'de 2 dk santrifüj edildi.
8. Filtre altındaki tüp atıldı ve filtre yeni bir 1.5 m'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Filtrenin üzerine 30-100 µl DE Tamponu eklendi. 4-5 dk oda sıcaklığında bekletilip 10.900 x G'de 2 dk santrifüj edili ve filtre atıldı. eksrakte edilmiş DNA tüpte kaldı.
9. Ekstre edilen kalıp DNA, çalışmada kullanılana kadar -20/-70°C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Pozitif Kontrol Suşunun Canlandırılması ve DNA İzolasyonu

Çalışmamızda *H. pylori* pozitif kontrol suşu olarak *H. pylori* NCTC 99 (Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür koleksiyonu, RSKK no: 050147) suşu kullanıldı. Liyolize halde gelen suş 1 cc BHIB (Brain Heart Infusion Broth) içerisinde 37°C'de 2 saat inkübe edilerek Columbia agar (Biomerieux) besiyerinde (antimikrobiyal ve IsoVitaleX suplamanti ilaveli) ekim yapıldı. Mikroaerofilik kit (Campygen, Oxoid, Lot: 13L08-C25-14) kullanılarak 37°C'de 4 gece inkübasyonu gerçekleştirildi. İnkübasyon

periyodundan sonra kontaminasyon açısından kontrol edildi ve Oksidaz (+), Üreaz (+), Gram (-) bakteri kolonileri *H. pylori* olarak tanımlanmıştır. Üreaz koloniden *H. pylori* DNA izolasyonu için Roche High Pure PCR Template Preparation Kiti (LOT NO:58440400, REF:11796828001) kullanıldı.

3.2.4. İzole Edilen DNA Miktarının Nanodrop ile Ölçülmesi

Kandan ve biyopsi materyalinden izole edilen total DNA'nın, miktar ve saflık tespiti için, A260/A280 nm dalga boyunda absorbanı NanoPhotometer N50 IMPLEN cihazıyla ölçüldü. DNA miktarının 10-200 ng/μl arası ve saflıklı 1.7-1.9 olduğu tespit edildi. Daha sonra ekstratlar çalışma süresince -20/-70°C'de saklandı.

3.3. PCR Uygulamaları

3.3.1. *H. pylori* ureC (glmM) Geninin Amplifikasyonu

glmM genini tespit etmek amacıyla bu gene spesifik 294 bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan glmM-F 5'- AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T -3' ve glmM-R 5'- AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC -3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik eppendorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 μl olacak şekilde Master Mix (AMPILIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 μl, her bir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0,25 μl, , steril nukleaz free su 6 μl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma izole edilen DNA örneğinden, pozitif kontrol örneğinden ve negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 μl eklendi ve her per tüpü toplam 25 μl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cykler'a yerleştirildi.

Tablo 3.2. *H. pylori* ureC (glmM) Geninin amplifikasyon aşamaları

1	94°C	ilk denaturasyon	4 dk	1
2	94°C	denaturasyon	1 dk	35
	56°C	bağlanma	1 dk	
	72°C	uzama	1 dk	
3	72°C	son uzama	7 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek incelendi.

3.3.2. Konak Doku Polimorfizminin Belirlenmesi

IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 genlerindeki polimorfizmler, PCR-Restriksiyon Fragment Length polimorfizmi (RFLP) ile tespit edildi.

3.3.2.1. IL-6 Geninin Amplifikasyonu ve Hin1II (NlaIII) Enzimi ile Kesimi

IL-6 geninin - 174 pozisyonundaki polimorfizmi araştırmak için aşağıdaki primerler kullanıldı. IL-6-F 5'-TTGTCAAGACATGCCAAAGTG-3' ve IL-6-R 5'-TCAGACATCTCCAGTCCTATA-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik ependorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 μl olacak şekilde Master Mix (AMPILIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0,25 μl, , steril nukleaz free su 6 μl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma izole edilen DNA örneğinden ve Negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 μl eklendi ve her pcr tüpü toplam 25 μl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi.

Tablo 3.3. IL-6 Geninin amplifikasyon aşamaları

1	94°C	ilk denaturasyon	5 dk	1
2	94°C	denaturasyon	30 sn	30
	60°C	bağlanma	30 sn	
	72°C	uzama	30 sn	
3	72°C	son uzama	5 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %0,5 mg/ml Etidyum bromid bulunan %2'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu 300 bp olan bantlar teyit edildi ve non-spesifik bantlar yönünden kontrol edildi. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

300 bp uzunluğundaki PCR ürünleri, restriksiyon enzimi Hin1II (NlaIII) (Thermoscientific, 300 U, 5 u/μl LOT: 01182782) ile kesildi ve daha sonra etidyum bromür ile boyanmış %3.5 agaroz jel üzerinde elektroforez ile analiz edildi.

RFLP Uygulaması:

Amplifiye edilen örnek 10 μL (~0.1-0.5 μg of DNA)

Hin1II 2 μL (5U/μl)

10X Buffer G 2 μL

Ultra pür su 18 μL

Toplam hacim 32 μl

1-Yavaşça karıştırıldı ve birkaç saniye spinlendi

2- 16 saat. 37°C'de inkübe edildi.

3- 65°C'de 20 dk. inkübe edilerek enzim inaktive edildi.

4- %3,5'lik agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu ve UV ışığında görüntülendi.

5- Elde edilen fragment büyüklüğü ve sayısına göre genotip tayini yapıldı.

Genotipler şu şekilde gözlemlendi:

G/G, 233 bp, 54 bp ve 13 bp'den oluşan üç bant

G/C, 233 bp, 122 bp, 111 bp, 54 bp ve 13 bp'den oluşan beş bant

C/C, 122 bp, 111 bp, 54 bp ve 13 bp'den oluşan dört bant.

3.3.2.2. IL-8 Geninin Amplifikasyonu ve Munl (MfeI) Enzimi ile Kesimi

IL-8 geninin -251 konumundaki polimorfizmi araştırmak için aşağıdaki primerler kullanıldı. IL-8-F 5'-TTCTAACACCTGCCACTCTAG-3' ve IL-6-R 5'-CTGAAGCTCCACAATTTGGTG-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik epandorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 μl olacak şekilde Master Mix (AMPLIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0,25 μl, , steril nukleaz free su 6 μl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışımaya izole edilen DNA örneğinden ve Negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 μl eklendi ve her pcr tüpü toplam 25 μl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cyclers'a yerleştirildi.

Tablo 3.4. IL-8 Geninin amplifikasyon aşamaları

1	94°C	ilk denaturasyon	4 dk	1
2	94°C	denaturasyon	30 sn	35
	60°C	bağlanma	30 sn	
	72°C	uzama	30 sn	
3	72°C	son uzama	7 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %0,5 mg/ml Etidyum bromid bulunan %2'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu 108 bp olan bantlar teyit edildi ve non-spesifik bantlar yönünden kontrol edildi. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

108 bp uzunluğundaki PCR ürünleri, restriksiyon enzimi Munl (MfeI) (Thermoscientific, 300 U, 10 u/μl LOT: 01163959) ile kesildi ve daha sonra etidyum bromür ile boyanmış %3.5 agaroz jel üzerinde elektroforez ile analiz edildi.

RFLP Uygulaması:

Amplifiye edilen örnek 10 µL (~0.1-0.5 µg of DNA)

Munl 1 µL (10 U/µl)

10X Buffer G 2 µL

Ultra pür su 18 µL

Toplam hacim 31 µl

1-Yavaşça karıştırıldı ve birkaç saniye spinlendi

2- 16 saat. 37°C'de inkübe edildi.

3- 65°C'de 20 dk. inkübe edilerek enzim inaktive edildi.

4- %3,5'lik agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu ve UV ışığında görüntülendi.

5- Elde edilen fragment büyüklüğü ve sayısına göre genotip tayini yapıldı.

Genotipler şu şekilde gözlemlendi:

T/T, 108 bp'den oluşan tek bir bant,

T/A, 108 bp, 76 bp ve 32 bp'den oluşan üç bant

A/A, 76 bp ve 32 bp'den oluşan iki bant.

3.3.2.3. IL-10 Geninin Amplifikasyonu ve MaeIII Enzimi ile Kesimi

IL-10 geninin -819 konumundaki polimorfizmi araştırmak için aşağıdaki primerler kullanıldı. IL-6-F 5'-ATCCAAGACAACACTACTAA-3' ve IL-6-R 5'-TAAATATCCTCAAAGTTCC-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/µl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik ependorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde Master Mix (AMPLIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 µl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/µl) 0,25 µl, , steril nukleaz free su 6 µl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 µl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma izole edilen DNA örneğinden ve Negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 µl eklendi ve her pcr tüpü toplam 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi.

Tablo 3.5. IL-10 Geninin amplifikasyon aşamaları

1	94°C	ilk denaturasyon	6 dk	1
2	94°C	denaturasyon	1 dk	35
	57°C	bağlanma	1 dk	
	72°C	uzama	1 dk	
3	72°C	son uzama	5 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %0.5 mg/ml Etidyum bromid bulunan %1.6'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu 588 bp olan bantlar teyit edildi ve non-spesifik bantlar yönünden kontrol edildi. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

588 bp uzunluğundaki PCR ürünleri, restriksiyon enzimi MaeIII (Roche, 250 U, 2,5 u/μl LOT: 36608329) ile kesildi ve daha sonra etidyum bromür ile boyanmış %2,5 agaroz jel üzerinde elektroforez ile analiz edildi.

RFLP Uygulaması:

Amplifiye edilen DNA 5 μL (~0.1-0.5 μg of DNA)

MaeIII 1 μL (2.5U/μl)

2X MaeIII Incubation Buffer 12.5 μL

Ultra pür su 6.5 μL

Toplam hacim 25 μl

1-Yavaşça karıştırıldı ve birkaç saniye spinlendi

2- 2 saat 55°C'de inkübe edildi.

3- %2,5'lik agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu ve UV ışığında görüntülendi.

4- Elde edilen fragment büyüklüğü ve sayısına göre genotip tayini yapıldı.

Genotipler şu şekilde gözlemlendi:

C/C, 292 bp, 217 bp ve 79 bp'den oluşan üç bant

C/T, 509 bp, 292 bp, 217 bp ve 79bp'den oluşan dört bant

T/T, 509 bp ve 79 bp'den oluşan iki bant.

3.3.2.4. IL-17A Geninin Amplifikasyonu ve XagI (EcoNI) Enzimi ile Kesimi

IL-17A geninin - G197A konumundaki polimorfizmi araştırmak için aşağıdaki primerler kullanıldı. IL-6-F 5'-AACAAAGTAAGAATGAAAAGAGGACATGGT-3' ve IL-6-R 5'-CCCCCAATGAGGTCATAGAAGAATC-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik ependorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 μl olacak şekilde Master Mix (AMPLIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0,25 μl, , steril nukleaz free su 6 μl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışımaya izole edilen DNA örneğinden ve Negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 μl eklendi ve her pcr tüpü toplam 25 μl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cyler'a yerleştirildi.

Tablo 3.6. IL-17A Geninin amplifikasyon aşamaları

1	95°C	ilk denaturasyon	4 dk	1
2	94°C	denaturasyon	40 sn	35
	56°C	bağlanma	35 sn	
	72°C	uzama	30 sn	
3	72°C	son uzama	4 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %0,5 mg/ml Etidyum bromid bulunan %2'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu 300 bp olan bantlar teyit edildi ve non-spesifik bantlar yönünden kontrol edildi. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

102 bp uzunluğundaki PCR ürünleri, restriksiyon enzimi XagI (EcoNI) (Thermoscientific, 1000 U, 10 u/μl lot: 01197771) ile kesildi ve daha sonra etidyum bromür ile boyanmış %3 agaroz jel üzerinde elektroforez ile analiz edildi.

RFLP Uygulaması:

Amplifiye edilen örnek 10 µL (~0.1-0.5 µg of DNA)

XagI 1 µL (5U/µl)

10X Buffer R 2 µL

Ultra pür su 18 µL

Toplam hacim 31 µl

1-Yavaşça karıştırıldı ve birkaç saniye spinlendi

2- 16 saat. 37°C'de inkübe edildi.

3- 65°C'de 20 dk. inkübe edilerek enzim inaktive edildi.

4- %3'lik agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu ve UV ışığında görüntülendi.

5- Elde edilen fragment büyüklüğü ve sayısına göre genotip tayini yapıldı.

Genotipler şu şekilde gözlemlendi:

G/G, 68 bp, 34 bp'den oluşan iki bant.

G/A, 102 bp, 68 bp, 34 bp'den oluşan üç bant.

A/A, 102 bp'den oluşan tek bant.

3.3.2.5. IL-19 Geninin Amplifikasyonu ve Hind III Enzimi ile Kesimi

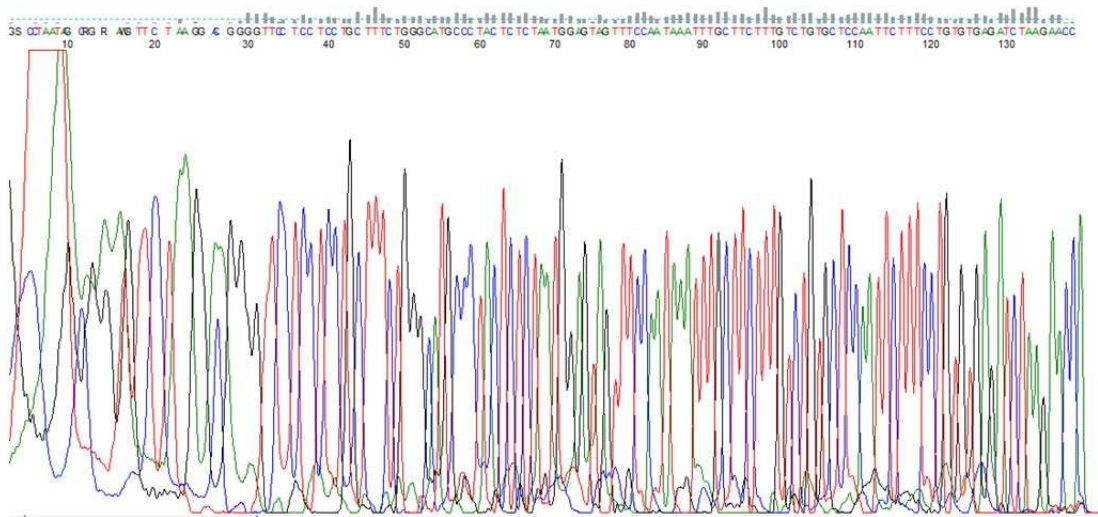
IL-19 geninin - rs1028181 (-513 T/C) konumundaki polimorfizmini belirlemek için, primerler IL-19-F 5'-CCAAGTTTAATCATAGCTCCTTATAG-3' ve IL-19-R 5'-GGTTCTTAGATCTCACACAGG-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril nukleaz free su ile son konsantrasyonu 100 pmol/µl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Kontaminasyonu önlemek için stok primerler steril 1.5 ml'ik ependorf tüplere dağıtıldı. Toplam reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde Master Mix (AMPLIQON PCR ENZYMES AND REAGENTS 2x Master Mix RED, 1.5 mM MgCl₂) 12.5 µl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/µl) 0,25 µl, steril nukleaz free su 6 µl, DMSO (Dimethyl sulfoxide) 1 µl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak steril nukleaz free su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma izole edilen DNA örneğinden ve Negatif kontrol olarak nukleaz free distile su dan 5 µl eklendi ve her pcr tüpü toplam 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi. Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı.

Tablo 3.7. IL-19 Geninin amplifikasyon aşamaları

1	95°C	ilk denaturasyon	5 dk	1
2	94°C	denaturasyon	30 sn	30
	56°C	bağlanma	30 sn	
	72°C	uzama	30 sn	
3	72°C	son uzama	5 dk	1
+4 °C'de bekleme konumu				

Amplifikasyon ürünleri %0,5 mg/ml Etidyum bromid bulunan %2'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu 170 bp olan bantlar teyit edildi ve non-spesifik bantlar yönünden kontrol edildi. Jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

PCR, Hadipourfard ve diğerlerinin ³⁵⁴ çalışmasında önerilerin primerler ve restriksiyon enzimi Hind III ile PCR RFLP yapılması planlanıyordu, ancak önerilen primerler ile amplifiye edilen IL-19 gen bölgesi, Hind III enzimi için tanıma bölgesinin olmadığı tespit edildi. İlgili primerlerle amplifiye edilen bölgenin sekansı NCBI web tabanından ekstre edildi ve Webcutter, İnsilico web tabanlarından enzimin kesme bölgesi olmadığı tesbit edildi, ayrıca doğrulamak için DNA dizi sekansı yapıp teyit edildi.



Şekil 3.1. 5'-CCAAGTTTAATCATAGCTCCTTATAG-3' ve R 5'-GGTTCTTAGATCTCACACAGG-3' primerleri ile amplifiye edilen IL 19 gen bölgesinin dizi analizi

3.4. Agaroz Jel Elektrofözezi ve Görüntülenmesi

%2-3.5 konsantrasyonlarında elektroföze agaroz jel hazırlamak için TBE (Tris Base, Borik asit, EDTA) 10X konsantrasyonda hazırlandı. 10X TBE stok solüsyonundan 10 ml alınarak 90 ml distile su ile karıştırılarak 1X TBE konsantrasyonu hazırlandı. Ültre pure saflıktaki agarozdan, amplilikon boyutlarına göre 2-3.5 g tartıldı. Cam bir balon içerisine aktararak üzerine 10 cc, 1X TBE eklendi ve hafifçe karıştırdıktan sonra mikrodalga fırında eritilerek oda ısısında soğumaya bırakıldı. Soğumaya yakın içerisine 5 µl etidyum bromit (stok 10 mg/ml) eklendi ve jel tankına (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System) dökülerek taraklar yerleştirildi. 20-30 dk bekletilerek oda sıcaklığına getirildi ve katılaşması sağlandı. Katılaşmadan emin olduktan sonra taraklar çıkartılarak kuyucuklar oluşturuldu. Hazırlanan jel elektroföze cihazına yerleştirilerek üzeri daha önce jel için hazırlanan 1X TBE solüsyonuyla yeteri seviyeye gelene kadar dolduruldu.

3.5 Solüsyonların Hazırlanması

3.5.1. 10X TBE Solüsyonunun Hazırlanması

108 gr Tris-Base, 55 gr Borik asit, 8.3 gr EDTA tartıldı ve steril bir balona aktararak 1 litre distile su eklendi ve çözünmesi manyetik karıştırıcı yardımı ile gerçekleştirildi. Oda ısısında muhafaza edildi. (Tris-base Sigma, MW: 121.14 g, Lot: 116K5454; Borik asit Merck MW: 61,83 g, Lot: A577065; EDTA Ambresco MW: 372,24 8.3 g, Lot: 1810B22).

3.5.2. Üreli buyon Solüsyonunun Hazırlanması

20 gr Üre, 9.1 gr KH_2PO_4 , 9.5 gr Na_2HPO_4 , 0.1 gr Maya özeti, 0.01 gr Fenol Kırmızısı tartıldı ve steril bir balona aktararak 1 litre distile su eklendi ve çözünmesi manyetik karıştırıcı yardımı ile gerçekleştirildi. PH 6.8 olarak ayarlandı ve iki kere filtreden geçirerek sterilizasyonu sağlandı Oda ısısında muhafaza edildi. (Üre,SIGMA-ALDRICH Lot:72560 ; KH_2PO_4 ,EMSURE Lot:A0383573 230; Na_2HPO_4 ; Maya özeti,MERCK KGaA Lot:1.03753.0500 ; Fenol Kırmızısı)

3.5.3. TE Solüsyonunun Hazırlanması

1.576 gr Tris-HCL, 0.3722 gr EDTA tartıldı ve steril bir balona aktarılarak 1 litre distile su eklendi ve çözünmesi manyetik karıştırıcı yardımı ile gerçekleştirildi. Oda ısısında muhafaza edildi. (Tris-HCL, SIGMA Lot:72H5616; EDTA Ambresco MW: 372,24 8.3 g, Lot: 1810B22).



4. BULGULAR

Bölgemizdeki *H. pylori*'ye bağlı çeşitli GİS patolojilere eşlik eden IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 genlerinin polimorfizmini belirlemek için planlanan çalışmada 200 hasta grubu ve 50 kontrol grubu olmak üzere toplam 250 klinik örnek çeşitli moleküler yöntemlerle incelendi.

4.1. Hasta grubunun verileri:

Endoskopik muayene eşliğinde toplam 200 semptomatik hastadan alınan antrum ve/veya kospus kaynaklı mide biyopsi örneklerinin, 179'ına gastrit tanısı (antral gastrit ve/veya pangastrit), 21'deysa ülser (gastrik ülser veya duodenal ülser) tanısı konuldu. Biyopsi materyalinde *H. pylori* genom varlığını tespit edebilmek için glmM primerlerinin kullanıldığı In-House PCR yöntemi ile 200 hastanın 69 (%34.5)'unda bakteri varlığı belirlendi. Şekil 4.1'de 294 bp'lik glmM ampikonunun % 1,8'lik agaroz jel elektroforezinde UV ışığı altındaki görüntüsü görülmektedir. Hastaların önemli bir oranı, endoskopik muayene sonucu gastrit (pangastrit/ antral gastrit) kliniğe sahip hastalardan oluşmaktadır.

Tablo 4.1'de Hastaların *H. pylori* sonucuna göre dağılımı özetlenmiştir, hastaların 121 kadın, 79 erkek di. Hastaların endoskopik muayenelerinde 179 hasta gastrit tanısına (antral gastrit ve/veya pangastrit), 21'ise ülser (gastrik ülser veya duodenal ülser) tanısına sahipti. Tablo 4.2'da ayrıntılı olarak *H. pylori* pozitif hastaların yaş gruplarına göre ve Tablo 4.3'da *H. pylori* pozitif endoskopik bulgulara göre dağılımları özetlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen yaş ortalamaları 48,13 ($\pm$ 42.02), 29'ü erkek (% 57.97), 40'si kadın (% 79,1) dı.

Tablo 4.1. Hastaların *H. pylori* sonucuna göre dağılımı

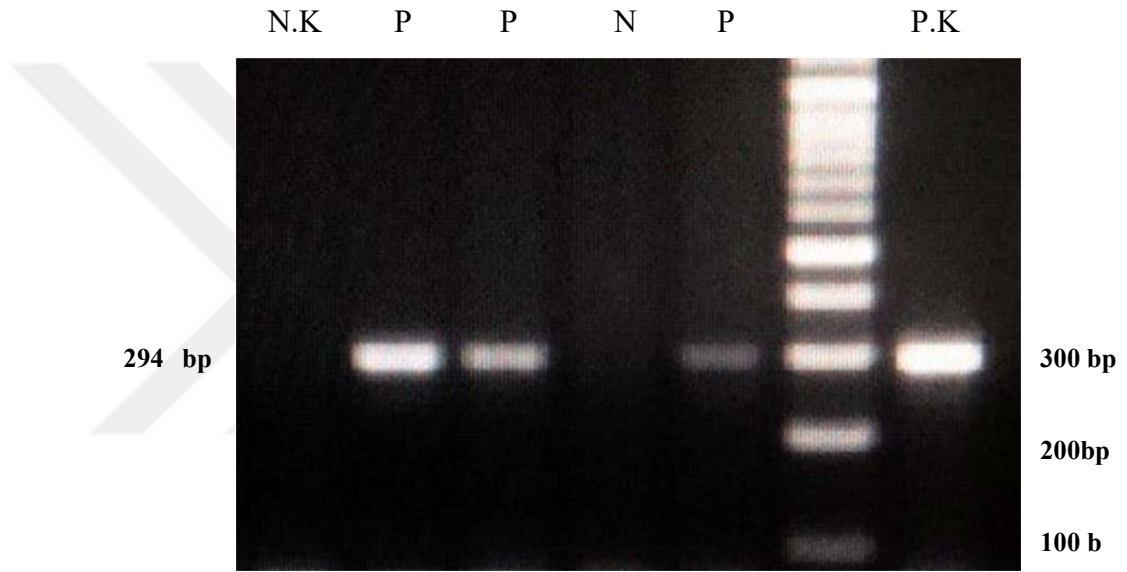
Hasta Gurubu	H. Pylori				Toplam
	H. Pylori +		H. Pylori -		
	Sayı	N(%)	Sayı	N(%)	Sayı
Kadın	40	33.05	81	66.94	121
Erkek	29	36.70	50	63.29	79
Toplam	69	34.5	131	65.5	200
Gastrit	58	32.40	121	67.59	179
Ülser	11	52.38	10	47.61	21
Toplam	69	34.5	131	65.5	200

Tablo 4.2. *H. pylori* pozitif hastaların yaş gruplarına göre dağılımı

H. pylori Pozitif		glmM		Yaş grupları						Toplam		
				17-31		32-46		47-61			62-78	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		Sayı	%
Cinsiyet	kadın	4	10	13	32.5	12	30	11	27.5	40		
	erkek	6	20.68	9	31.03	7	24.13	7	24.13	29		
	Toplam	10	14.49	22	31.88	19	27.53	18	26.08	69		
Endoskopik Bulgular	Gastrit	10	17.24	19	32.75	13	22.41	16	27.58	58		
	Ülser	0	0	3	27.27	6	54.54	2	18.18	11		
	Toplam	10	14.49	22	31.88	19	27.53	18	26.08	69		

Tablo 4.3. *H. pylori* pozitif hastaların endoskopik bulgulara göre dağılımı

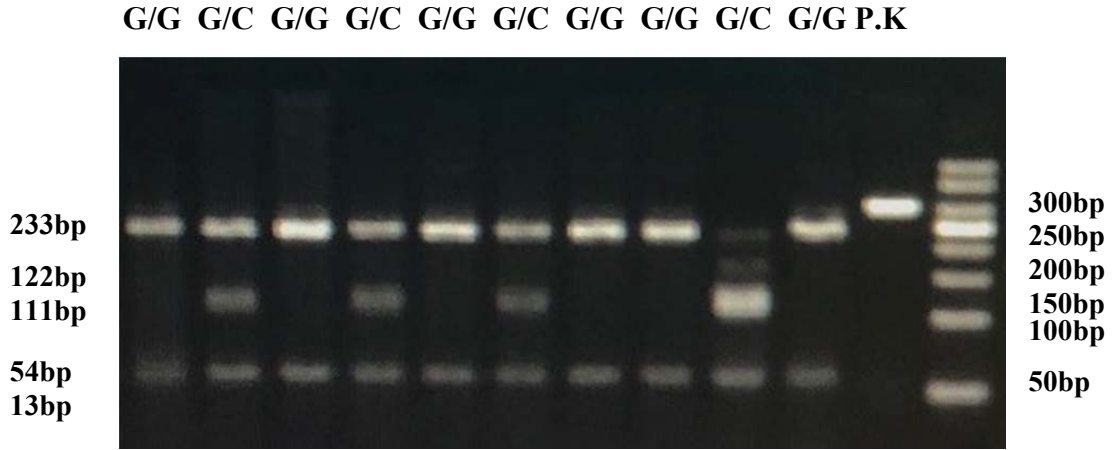
<i>H. pylori</i> PCR Pozitif	endoskopik blgular	Gastrit		Ülser		Toplam
	Cinsiyet	Sayı	%	Sayı	%	
	kadın	34	85	6	15	
	erkek	24	82.75	5	17,24	
	Toplam	58	84.05	11	15.94	



Şekil 4.1. glmM' nin (294 bp) elektroforez sonucu görüntüsü

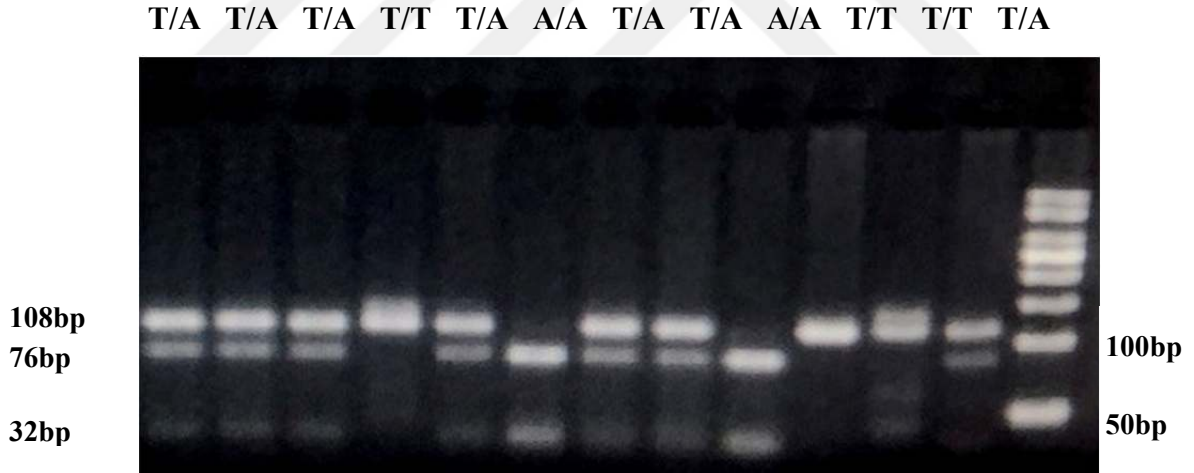
Konakdaki doku polimorfizmini tespit etmek amacıyla yapılan IL-6_174 polimorfizm analizinde, 36 (%52,17) hastada GG, 31 (%44,92) hastada GC ve 2 (%2,9) hastada CC polimorfizmi tespit edilirken, IL-8_251 de TT, 15 (% 21,73) hastada TA ve 51 (% 73,91) hastada AA polimorfizmi 3 (4,3) hastada , IL-10_819 de CC 33 (% 47,82) hastada, CT 28 (%40.57) hastada ve TT 8 (%12) hastada , IL-17A de GG 22 (%31,88) hastada GA 39 (%56,52) hastada ve AA polimorfizmi 8 (11,59) hastada tespit edildi.

IL-6-174 polimorfizmine ait 300 bp uzunluğundaki ampikonun (IL-6-174 G/C polimorfizmi) Hin1II (NLAI) restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra elde edilen DNA fragmanlarının % 2'lik agaroz jel elektroforezinde UV ışığı altındaki görüntüsü görülmektedir. (Şekil 4.2)



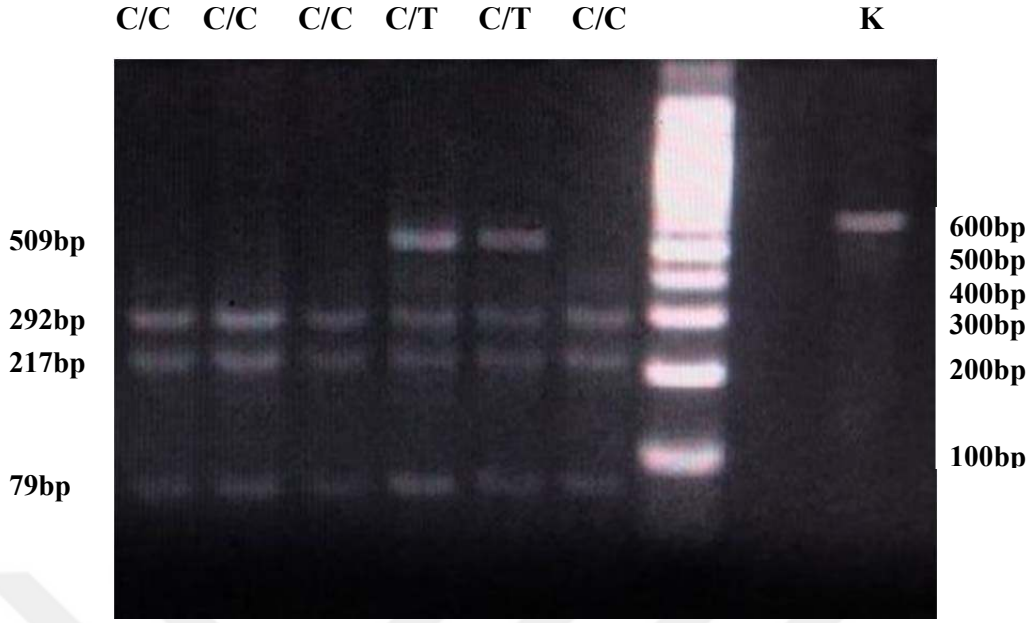
Şekil 4.2. IL-6-174 polimorfizmine ait 300 bp uzunluğundaki ampliconların, *Hin*III (NLAIH) restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra elde edilen DNA fragmanları

IL-8-251 polimorfizmine ait 108 bp uzunluğundaki ampliconun *Mun*I (*Mfe*I) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanlarının %3.5'lik agaroz jel elektroforezinde UV ışığı altındaki görüntüsü görülmektedir (Şekil 4.3).



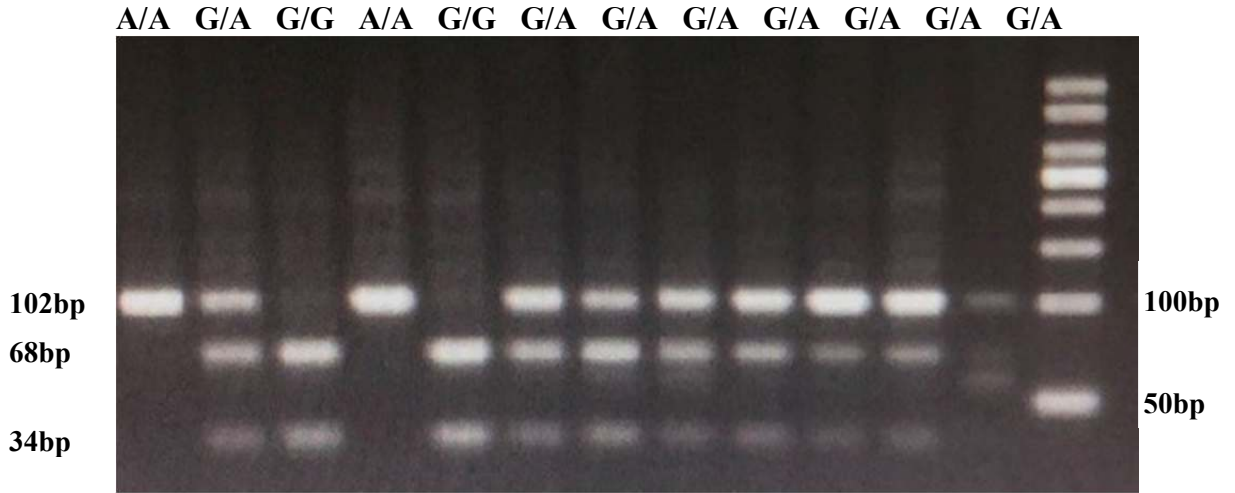
Şekil 4.3. IL-8-251 polimorfizmine ait 108 bp uzunluğundaki ampliconların *Mun*I (*Mfe*I) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanları

IL-10-819 polimorfizmine ait 588 bp uzunluğundaki ampliconun *Mae*III restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanlarının %1.6'lik agaroz jel elektroforezinde UV ışığı altındaki görüntüsü görülmektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. IL-10-819 polimorfizmine ait 588 bp uzunluğundaki ampliconların MaeIII restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanlarının

IL-17A polimorfizmine ait 102 bp uzunluğundaki ampliconun XagI (EcoNI) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanlarının %3.5'lik agaroz jel elektroforezinde UV ışığı altındaki görüntüsü görülmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. IL-17A polimorfizmine ait 102 bp uzunluğundaki ampliconların XagI (EcoNI) restriksiyon enzimi ile kesilmesi ile elde edilen DNA fragmanları

4.2. Kontrol grubunun verileri:

Kontrol kan grubunda 18'ü erkek (% 70,0), 32'si kadın (% 30,0), yaş ortalaması 31,4 ($\pm 5,8$) olan herhangi gastrointestinal şikayetleri olmayan sağlıklı 50 kişinin periferik kan örneği çalışıldı.

H. plori glmM Pozitif hastalarda tespit edilen polimorfizm oranları cinsiyete göre tablo 4.4'de ve *H. plori* glmM Pozitif hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda tespit edilen polimorfizmlerin kombinasyon insidansları tablo 4.5'de özetlenmiştir

Tablo 4.4. *H. plori* glmM Pozitif hastalarda tespit edilen polimorfizm prevalanslarının cinsiyete göre dağılımı.

<i>H. plori</i> glmM Pozitif Polimorfizim	Cinsiyet				Toplam	
	Kadın		Erkek			
	Sayı	N(%)	Sayı	N(%)	Sayı	N(%)
Alleles → IL-6 (−174)						
G	59	77.63	44	70.96	103	74.63
C	17	22.36	18	29.03	35	25.36
Genotypes → IL-6 (−174)						
G/G	21	55.26	15	48.38	36	52.17
G/G	17	44.73	14	45.16	31	44.92
G/C	0	0	2	6.45	2	2.90
C/C						
Alleles → IL-8 (−251)						
T	49	61.25	32	55.17	81	58.69
A	31	38.75	26	44.82	57	41.30
Genotypes → IL-8 (−251)						
T/T	10	25	5	17.24	15	21.73
T/T	29	72.5	22	75.86	51	73.91
T/A	1	2.5	2	6.89	3	4.3
A/A						
Alleles → IL-10 (−819)						
C	56	71.79	38	63.33	94	68.11
T	22	28.20	22	36.67	44	31.88
Genotypes → IL-10 (−819)						
C/C	20	51.28	13	43.33	33	47.82
C/C	16	41.02	12	40	28	40.57
C/T	3	7.69	5	16.66	8	12
T/T						
Alleles → IL-117A						
G	46	60.52	37	59.67	83	60.14
A	30	39.47	25	40.32	55	39.85
Genotypes → IL-17A						
G/G	12	31.57	10	32.25	22	31.88
G/A	22	57.89	17	54.83	39	56.52
A/A	4	10.52	4	12.90	8	11.59

Tablo 4.5. *H. plori* glmM Pozitif hastalar ve sağlıklı kontrol gurubunda tespit edilen polimorfizmlerin kombinasyon insidansları

Polimorfizim	H. plori +	H. plori + N(%)	S.K	S.K N(%)
Alleles → IL-6 (–174)				
G	103	74.63	76	76
C	35	25.36	24	24
Genotypes → IL-6 (–174)				
G/G	36	52.17	30	60
G/C	31	44.92	16	32
C/C	2	2.9	4	8
Alleles → IL-8 (–251)				
T	81	58.69	56	56
A	57	41.30	44	44
Genotypes → IL-8 (–251)				
T/T	15	21.73	16	32
T/A	51	73.91	24	48
A/A	3	4.3	10	20
Alleles → IL-10 (–819)				
C	94	68.11	68	68
T	44	31.88	32	32
Genotypes → IL-10 (–819)				
C/C	33	47.82	23	46
C/T	28	40.57	22	44
T/T	8	12	5	10
Alleles → IL-117A				
G	83	60.14	67	67
A	55	39.85	33	33
Genotypes → IL-17A				
G/G	22	31.88	23	46
G/A	39	56.52	21	42
A/A	8	11.59	6	12

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori, yaklaşık kırk yıldır insanlığın önemli bir patojeni olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, enfekte bireylerin tedavisinin etkisine ve sosyoekonomik yaşam standartlarının yüksek olduğu topluluklarda enfeksiyonun bulaşmasının azalmasına rağmen, dünya nüfusunun yarısını enfekte eden en yaygın insan bakteriyel patojeni olmaya devam etmektedir ve sonuç olarak, hala dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir ³⁶⁸. *H. pylori*, kronik gastrit, peptik ülser hastalığı (PUD) dahil olmak üzere çeşitli gastro-duodenal hastalıkların etiyolojik bir faktörü olan, genellikle insan midesine kolonize olabilen özel bir bakteridir. Ülser, bazı mide kanseri türleri (GC), hatta kolon kanseri ve pankreas kanserinin sebebi olarakda bilinmektedir, Ancak çoğu durumda *H. pylori* enfeksiyonu asemptomatiktir ⁴²⁵. Mide kanseri, dünya çapında en yaygın 4. malignite ve kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir, 2018 yılında bir milyondan fazla yeni hasta ve tahmini 783.000 ölümle sonuçlanmıştır⁴²⁶.

H. pylori enfeksiyonunun patojenik faktörleri ve *H. pylori* ile ilişkili mide hastalıklarının gelişimi, *H. pylori* suşunun virülans derecesi, konağın genetik yatkınlığı ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Yapılan araştırmalar, sitokinlerin üretimini düzenleyen genetik faktörlerin, bir kişinin *H. Pylori* enfeksiyonuna duyarlılığını etkileyebileceğini göstermiştir; bu, PUD, GC gibi *H. pylori* ile ilişkili hastalıkların patojenik süreçlerinde önemli bir rol oynar.

Proinflamatuvar sitokin ekspresyonu, *H. pylori*'nin hayatta kalmasını ve kolonizasyonunu destekleyen bir hipoasitlik durumu yaratır ⁴²⁵.

Biz *H. pylori* ile gastroduodenal patoloji arasındaki muhtemel ilişkiyi, bu ilişkide rol oynayan konağa ait genlerdeki allelik polimorfizmi tespit etmek amacı ile moleküler bazlı yöntemleri kullandığımız çalışmamızda gastrik biyopsi örneklerinden *H. pylori* DNA izolasyonu için optimizasyonu oldukça iyi olan Roche High Pure PCR Template Preparation ekstraksiyon kitlerini kullanmayı tercih ettik. PCR ile ön tanı için de ilk olarak her hastanın bir biyopsi örneğini üreli buyunde inkübe ederek hızlı *H. pylori* tanısı gerçekleştirip ve daha sonra bakteriyi daha yüksek oranda tespit eden daha spesifik ve konservatif olan glmM genini hedef alan primerleri kullandık (Tablo 3.1).

Çalışmamızın ilk hedefi semptomatik kişilerin mide mukozasında *H. pylori* kolonizasyonu sıklığını belirlemektir. Bu amaçla değerlendirilmeye alınan ve yaş ortalaması 48,13 olup, çoğunluğunda endoskopik olarak, antral gastrit, bulbit ve pangastrit tanısı konmuş olan, semptomatik 200 hastaya ait antrum ve/veya korpus örneklerinden 69 (% 34.5)'ünde glmM genini hedef dizilerinin varlığını PCR ile gösterdik. Kontrol grubundaysa her hangi bir GİS şikayeti olmayan 50 gönüllü kişiden alınan total kan örneklerini çalışmaya dahil ettik. Kontrol grubunun yaş ortalaması 42 olmaktadır.

H. pylori enfeksiyonundaki anahtar patofizyolojik durum, epitel hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği ve düzenlediği mide mukozasındaki inflamatuvar cevabın indüklenmesidir ^{2, 3}. *H. pylori* ile indüklenen bu gastrik mukozal inflamasyona proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler aracılık eder. Sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokin salgılama seviyelerini ve gastrik patolojiiyi etkilediği ve GİS hastalıkları için risk oluşturduğu ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Gastrik patolojiler, konağın genetik yapısı ile *H. pylori* virülans genleri arasındaki karmaşık bir etkileşim içinde gelişmektedir. İnterlökin IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A ve IL-19 gibi sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, sitokinlerin salgı seviyelerini etkilediği ve GİS hastalıklarının gelişmesine sebep olduğu düşünülmektedir ⁵⁻⁷.

İnterlökin-6, inflamatuvar bir aracı ve bir endokrin düzenleyici olarak işlev gören proinflamatuvar bir sitokindir. Ayrıca, doğal ve kazanılmış immunité arasında bir haberci olarak konak savunma mekanizmalarında da önemli bir role sahiptir ³³³. IL-6 geni, kromozom 7'de bulunur. 174(G/C) konumunda 50 yan bölgesinde bir polimorfizm tanımlanmıştır ³. Bu polimorfizm, IL-6 geninin transkripsiyonunda ve ekspresyonunda bireyler arası varyasyonlarla sonuçlanabilir ve bu nedenle bir bireyin *H. pylori* enfeksiyonu ve altta yatan patogenezi içeren çeşitli hastalıklara duyarlılığını etkileyebilir. IL-6'nın gastrik mukozal seviyeleri, *H. pylori* ile ilişkili gastritte yükselir ve enfeksiyonun eradikasyonundan sonra azalır ^{3, 335}. Ek olarak, mide kanseri olan *H. pylori* pozitif bireylerde mide IL-6 düzeylerinin arttığı bildirilmektedir ³³⁶. Ramis ⁴ ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmada IL-6-174 genetik polimorfizminin ile mide kanseri riski arasında bir ilişki bulamadılar. Hwang ³³⁴ ve arkadaşları 2003 yılında ABD'de yaptıkları çalışmada IL-6-174 gen polimorfizmleri ile klinik sonuç arasında bir

ilişki bulunmadılar. Yinede aynı şekilde Gatti ³³¹ ve arkadaşları 2005 yılında brazilyada yaptıkları çalışmada kronik gastritli erişkin hastalarda C ve G allelleri ile mide mukozasında inflamatuvar süreç arasında bir ilişki bulamadılar.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında IL-6-174 polimorfizmi (GG, GC, CC) ve IL-6-174 bölgesinde G taşıyıcılığı, C taşıyıcılığı, açısından anlamlı bir fark bulunamı ve gastrik patoloji gelişme riski üzerine etkili olmadığı tespit ederek, yurt dışında yapılan çalışmaları desteklemektedir.

İnterlökin-8, *H. pylori* kaynaklı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olan bir diğer proinflamatuvar sitokindir ³³⁹. *H. pylori* ile enfekte mide mukozasında IL-8'in yüksek ekspresyonu gösterilmiştir. IL-8, *H. pylori* ile enfekte mide mukozasında kemotaksiye ve inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna neden olur ³⁴¹. 4. kromozom üzerinde yer alan IL-8 geni, transkripsiyon başlangıç bölgesine göre 251 konumunda tek bir nükleotid polimorfizmi (SNP T-A baz geçişi) sergiler ^{342, 343}. A aleli, artan IL-8 üretimi ve sonuç olarak güçlendirilmiş bir inflamatuvar cevap ile ilişkili olma eğilimindedir ^{3, 342}.

Kang ⁷ ve arkadaşları 2009 yılında korede yaptıkları çalışmada *H. Pylori* pozitif hasta gurubunun IL-8-251 A/A genotipini, T/T genotipiyle karşılaştırıldığında, sırasıyla GC ve BGU için 2.0 ve 2.7 kat daha yüksek risk ile ilişkili olduğunu ve IL-8-251 T/A polimorfizminin gastroduodenal hastalıkların gelişimini etkilediğini göstermişlerdir. Ek olarak, bu IL-8-251 A/A genotipinin, yaygın GC tipinden ziyade bağırsak tipi GC için daha yüksek bir risk ile ilişkili olduğu tespit etmişler ve IL-8-251 genetik polimorfizminin kronik *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkili olduğunu ve özellikle bağırsak tipi olmak üzere GC'nin gelişiminde rol oynadığını vurgulamışlardır.

Ramis ⁴ ve arkadaşları 2015 yılında inceledikleri IL-8-251 genetik polimorfizmlerinde IL-8 geninin 251 pozisyonundaki A alelinin varlığının *H. pylori* enfeksiyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu gözlemlemişler ve IL-8 geninin 251 pozisyonundaki A/A genotipini taşıyan ve IL-10 geninin 819 pozisyonundaki T alelinin taşıyan hastalar, *H. pilori* enfeksiyonu varlığında, peptik ülser oluşma riskini artırdığını tespit etmişlerdir. Chang ³⁴⁰ ve arkadaşları 2017 yılında Korede yaptıkları çalışmada IL-8 -251 T > A polimorfizminin ve *H. pylori* enfeksiyonuna yanıt olarak artan IL-8 üretiminin kombinasyonu, Kore popülasyonunda şiddetli Antral gastrit (AG) ve Gastrit CanCer (GC) gelişimi için bir risk faktörü olabileceğini önermiştir. Aynı şekilde

Supriatmo³³⁸ ve arkadaşları 2020 yılında Endonezyada yaptıkları çalışmada Tütüne maruz kalan *H. pylori* pozitif çocuklar gastrit riski 3.4 kat arttığını ve IL-8 düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ve IL-8-251 AT ve TT polimorfizminin hasta grubundaki çocuklarda kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu ve L-8 -251 AT polimorfizmi olan hasta grubunda, TT polimorfizmine göre 8.7 kat daha yüksek riske sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ancak Taguchi³³⁷ ve arkadaşları 2005 yılında Japonyada yaptıkları çalışmada IL-8 -251 AT polimorfizmi ile atrofik gastrit ve ayrıca mide kanseri arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Biz çalışmamızda IL-8 -251 polimorfizminde (TT, TA, AA) T/A genotipi hasta grubunda, kontrol grubuna göre 1.5 kat daha fazla bulduk, ancak IL-8 -251 bölgesinde T taşıyıcılığı, A taşıyıcılığı arasında anlamı fark bulamadık.

Bu iki sitokinden farklı olarak IL-10, hücre aracılı immün cevapları ve sitotoksik inflamatuvar cevapları down regüle eden bir anti-inflamatuvar sitokindir³⁴⁴. *H. pylori*, etkili bir bağışıklık cevabını bastırmanın bir yolu olarak IL-10 up regülasyonuna yol açabilir, bu da enfeksiyonu ve mikroorganizmanın hayatta kalmasını destekler³⁴⁶. İnsan IL-10'unu kodlayan gen, kromozom 1'de bulunur. Bu genin promotör bölgesinde düşük IL-10 üretimi ile bağlantılı iki SNP rapor edilmiştir. Bunlar; -819 pozisyonunda bir C-T baz geçişi ve -592 pozisyonunda bir C-A baz geçişidir^{347, 348}. Düşük IL-10 üretimi, artan gastrik inflamasyon yoğunluğu ve *H. pylori* ile enfekte hastalarda artmış gastrik karsinom riski ile ilişkilidir^{349, 350}.

Cheng³⁴⁵ ve arkadaşları 2010 yılında Taiwanda yaptıkları çalışmada IL-10-819 (C/T genotipi ve C taşıyıcısı) polimorfizminin gastrit ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu, ancak diğer gastroşntestinal hastalıkları ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir. Ramis⁴ ve arkadaşları 2015 yılında brazilyada 227 hastadan alınan mide biyopsi örneklerini analiz ettiktende, IL-10 geninin 819 pozisyonundaki T aleli taşıyan *H. pylori* pozitif hastalarda peptik ülser riskinin daha yüksek olduğunu buldular. Bu aleli, pro-inflamatuvar yanıtı uyaran IL-10'un azalmış ekspresyon seviyesi ile ilişkilendirdiler. Zambon³³² ve arkadaşları 2005 yılında İtalyan hastalarda IL-10 -819T/T genotipinin bağırsak metaplazisi ve noncardia mide kanseri ile ilişkili olduğunu, ancak peptik ülser ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda ülserli ve gastritli hasta grupları arasında IL-10-819 polimorfizmi (TT, CT ve TT) ve bu lokasyonda hasta ve kontrol gurubunda C ve T taşıyıcılığı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, belirli IL-17 polimorfizmlerinin, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar ve ülseratif kolit gibi enflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir; Bu sitokinin anormal ekspresyonunun vücudu çeşitli hastalıklara daha yatkın hale getirdiği düşünülmektedir. Ek olarak, IL-17'nin *H. pylori* aracılı indüksiyonunun hastalığın ilerlemesine sebep olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. IL-17 'nin özel bir polimorfizmi (G-197A veya rs22759133), hem Japon hem de Çin popülasyonlarında belirli mide kanseri türleri ile ilişkilendirilmiştir. IL-17 promotör bölgesi içinde -197 pozisyonundaki guanin ile Adenin yer değiştirmesi, 2 nükleer faktörle aktive edilmiş T hücresi bağlama motiflerinin yakınında yer alır. Bu bölgenin IL-17 ekspresyonu için gerekli olduğu gösterildiğinden, bu mutasyonu barındıran hücrelerin daha yüksek seviyelerde IL-17 ürettiğine ve bunun da IL-17 aracılı bağışıklık tepkilerini up regüle ettiğine inanılmaktadır. Bu hipotez, çeşitli tümör türlerinin artan IL-17 seviyelerini eksprese etmesi gerçeğiyle desteklenir. Bu veriler, IL-17 G-197A polimorfizminin bu hasta popülasyonunda mide kanseri gelişimine yatkınlık için iyi bir marker olabileceğini göstermektedir³⁵³.

Rafiei³⁵³ ve arkadaşları 2013 yılında Iranda yaptıkları çalışmada hasta popülasyonunda, kontrollere kıyasla mide kanseri hastalarında G-197A polimorfizminin önemli ölçüde daha sık olduğunu buldular. Bu veriler göre, IL-17 G-197A polimorfizminin bu hasta popülasyonunda mide kanseri gelişimine yatkınlık için iyi bir gösterge olabileceğini vurguladılar. Shibata³⁵¹ ve arkadaşları 2009 yılında Japonyada yaptıkları çalışmada, IL-17A gen promotörünün G-197A polimorfizmi ile mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki buldular, ancak IL-17F gen polimorfizmi 7488T/C ile mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulamadılar. Yine aynı şekilde Gubina³⁵² ve arkadaşları 2022 yılında Rusyada inceledikleri örneklerde, IL-17A G197A geninin sadece AA genotipinin mide kanserli hastalarda sağlıklı kişilere göre önemli ölçüde daha yaygın olduğunu tespit ediler. Wu³³⁰ ve arkadaşları 2009 yılında Chinde yaptıkları çalışmada IL-17F 7488GA ve GG genotipinin mide kanseri riskini önemli ölçüde artırdığını, ancak IL-17A 197 polimorfizminin mide kanseri duyarlılığı ile ilişkili olmadığını buldular.

Bizim yatığımız çalışmada hasta ve kontrol grubu arasında IL-17A polimorfizmi (GG, GA, AA), G/A genotipi hasta grubunda kontrol grubuna göre 1.3 kat daha fazla bulundu ve A allel taşıyıcıların hasta grubunda kontrol grubunun 1.2 katı olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak bizim çalışmamızda, *H. pylori* ve konak genotiplerinin belirlenmesinin, yüksek kişisel riskli dispeptik hastaların tanımlanmasında ve eradikasyon tedavisi için hastaların seçiminde kullanışlı bir yöntem olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte enfeksiyonun prognozunu belirlenmesinde, konak ait hangi parametrelerin prediktif değer taşıdığı, hangi gruplarda eradikasyon tedavisi uygulanacağı ve eradikasyonun kost efektif olup olmayacağı tartışmalıdır. *H. pylori* ile enfekte kişilerde GK riski % 1-4 arasındadır. Bununla birlikte GK multifaktöryel bir hastalıktır ve diyet alışkanlıkları gibi çevresel faktörler de önemli roller oynayabilmektedir. *H. pylori* ve genotipleri ile gastroduodenal hastalıklar arasındaki ilişkiyi tespiti yönelik olarak yapılan çalışmalarda, farklı ülkelerde veya bir ülkedeki farklı bölgelerde çalışmaya dahil edilen hastaların genetik özellikleri, beslenme alışkanlıkları, yaş, sigara kullanımı ve ailedeki nüfus sayısı gibi sebeplere bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Türkiye gibi *H. pylori* enfeksiyonlarının yüksek insidans ve prevalansa sahip olduğu ülkelerde farklı hasta gruplarındaki allel ve genotiplerin belirlenmesi hem genotip ve hastalığın prognozu arasında kurulacak ilişki ile prediktif bir veri sağlaması açısından hastaya, hem de ülkeye ve evrensel tıbbı katkı sağlayacaktır. Eradikasyon tedavisinin daha rasyonel bir tabana oturtulması için GK’de anlamlı olarak sık görülen genetik polimorfizmlerin tespit edilerek riskli hasta ve riskli suşların eradikasyon tedavisine alınması gereklidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gastroduodenal yakınmaları sebebi ile gastroenteroloji polikliniklerine başvuran ve endoskopi endikasyonu alarak tanı amaçlı gastrik biyopsi örnekleri alınan hastaların doku materyallerinde, *H. pylori* kolonizasyonu oranları, bir risk faktörü olarak konağa ait IL6-174, IL-8-251, IL10-819 ve IL17A gen polimorfizminin tespit edilerek, konağa ait hedef genlerdeki polimorfizmin klinik prognoza muhtemel etkilerinin gösterilmesi amaçlanan çalışmamızın sonucunda:

- 1- *H. pylori* semptomatik hastalarda % 34.5 gibi oranında kolonize olduğu,
- 2- Hasta gurubunun %60,5 kadın ve 39,5 erkek olduğu,
- 3- Hastaların endoskopik muayenelerinde %89,5 hastanın gastrit tanısına (antral gastrit ve/veya pangastrit), %10,5 ülser (gastrik ülser veya duodenal ülser) tanısına sahip olduğu,
- 4- *H. pylori* pozitif hastaların %57,97 kadın ve %42,02 erkek olduğu,
- 5- *H. pylori* pozitif hastaların %84'unun gastrit ve %16'sının ülserse sebep olduğu,
- 6- Mide biyopsi örneklerinde IL-8-251 ve IL-17A'da T/A ve G/A polimorfizmleri hasta gurubunda sağlıklı gürüba göre sırasıyla 1.5 ve 1.3 kat daha fazla olduğu,
- 7- Hasta ve kontrol grubu arasında IL-6-174 G/C ve IL-10-819 C/T polimorfizmleri ve C ve T taşıyıcılığının gastrik patoloji gelişme riski üzerine etkili olmadığı,

Sonuç olarak çalışmamız, *H. pylori* ve konak genotiplerinin belirlenmesinin, yüksek kişisel riske sahip dispeptik hastaların tanımlanmasında ve eradikasyon tedavisi için hastaların seçiminde kullanışlı bir yöntem olabileceğini vurgulanmaktadır. Bununla birlikte konak faktörlerin araştırılacağı ve hangi grupların eradikasyon tedavisi uygulanacağı ve kost efektif olup olmayacağını belirlenmesi için iyi planlanmış prospektif, longitudinal ve tercihen büyük popülasyonlu ulusal düzeyde çalışmalarla araştırılmasının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Romero-Adrián TB, Leal-Montiel J, Monsalve-Castillo F, et al.** *Helicobacter pylori*: bacterial factors and the role of cytokines in the immune response. *Current microbiology*. **2010**;60(2):143-155.
2. **Abdiev S, Ahn KS, Khadjibaev A, et al.** *Helicobacter pylori* infection and cytokine gene polymorphisms in Uzbeks. *Nagoya J Med Sci*. **2010**;72(3-4):167-172.
3. **Sugimoto M, Yamaoka Y, Furuta T.** Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2010**;16(10):1188.
4. **Ramis IB, Vianna JS, Gonçalves CV, von Groll A, Dellagostin OA, da Silva PEA.** Polymorphisms of the IL-6, IL-8 and IL-10 genes and the risk of gastric pathology in patients infected with *Helicobacter pylori*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. **2017**;50(2):153-159.
5. **Robinson K, Argent RH, Atherton JC.** The inflammatory and immune response to *Helicobacter pylori* infection. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. **2007**;21(2):237-259.
6. **McNamara D, El-Omar E.** *Helicobacter pylori* infection and the pathogenesis of gastric cancer: a paradigm for host-bacterial interactions. *Digestive and liver disease*. **2008**;40(7):504-509.
7. **Kang JM, Kim N, Lee DH, et al.** The effects of genetic polymorphisms of IL-6, IL-8, and IL-10 on *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal diseases in Korea. *Journal of clinical gastroenterology*. **2009**;43(5):420-428.
8. **Modlin I.** From Prout to the proton pump--a history of the science of gastric acid secretion and the surgery of peptic ulcer. *Surgery, gynecology & obstetrics*. **1990**;170(1):81-96.
9. **Kidd M, Modlin IM.** A Century of *Helicobacter pylori*. *Digestion*. **1998**;59(1):1-15.
10. **Ehrenberg CG.** Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. *Leopold Voss, Leipzig, Germany*. **1838**.
11. **Jaworski W.** Podrecznik Chorob zoladka. *Wydawnictwa Dziel Lekarskich Polskich*. **1889**;32.
12. **Bizzozero G.** Sulla ghiandole tubupari del tubo gastro-enterico. Appendice: Sulla presenza di batteri nelle ghiandole rettali e nelle ghiandole gastriche del cane. *Atti R Acad Sci Torino*. **1893**;38:623.
13. **Salomon H.** Über das *Spirillum* des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen: G. Fischer; **1896**.
14. **Krienitz W.** Ueber das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form im Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*. **1906**;32(22):872-872.
15. **Warren JR, Marshall B.** Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet*. **1983**;321(8336):1273-1275.
16. **Doenges JL.** Spirochetes in gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. **1938**;38(4):536-538.
17. **Marshall B, Warren JR.** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The lancet*. **1984**;323(8390):1311-1315.

18. **MARSHALL BJ.** History of the discovery of *C. pylori*. *Campylobacter pylori in gastritis and peptic ulcer disease*. **1989**;7-23.
19. **Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Clancy RJ.** Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Medical Journal of Australia*. **1985**;142(8):436-439.
20. **Morris A, Nicholson G.** Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *American Journal of Gastroenterology (Springer Nature)*. **1987**;82(3).
21. **Blaser MJ.** *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *Journal of Infectious diseases*. **1990**;161(4):626-633.
22. **Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ.** *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*. Oct **1997**;10(4):720-741.
23. **Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al.** Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **1989**;39(4):397-405.
24. **Forman D, Newell D, Fullerton F, et al.** Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *British Medical Journal*. **1991**;302(6788):1302-1305.
25. **Nomura A, Stemmermann GN, Chyou P-H, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ.** *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *New England Journal of Medicine*. **1991**;325(16):1132-1136.
26. **Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al.** *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *New England Journal of Medicine*. **1991**;325(16):1127-1131.
27. **Talley NJ, Zinsmeister AR, Weaver A, et al.** Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori* infection. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. **1991**;83(23):1734-1739.
28. **Anonymous.** NIH consensus conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*. **1994**;272:65-69.
29. **Goh KL.** Lessons learnt from the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Malaysia: JGHF Marshall and Warren Lecture 2017. *Journal of gastroenterology and hepatology*. **2018**;33(6):1177-1184.
30. **Peleteiro B, Bastos A, Ferro A, Lunet N.** Prevalence of *Helicobacter pylori* infection worldwide: a systematic review of studies with national coverage. *Digestive diseases and sciences*. **2014**;59(8):1698-1709.
31. **Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A.** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. Nov **2018**;68(6):394-424.
32. **Sonnenberg A.** Epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. **2022**;55:S1-S13.
33. **Graham DY. I.** *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. **1991**;6(2):105-113.
34. **Go MF, Clark H, Christison BBS, Hatton-Ward S, Sonnenberg A.** Prolonged Exposure to *H. pylori* (Hp) in Developing Countries: Is There an Increased Risk of Infection?: 95. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. **2005**;100:S54-S55.

35. **Peters C, Schablon A, Harling M, Wohlert C, Costa JT, Nienhaus A.** The occupational risk of *Helicobacter pylori* infection among gastroenterologists and their assistants. *BMC Infectious Diseases*. **2011**;11(1):1-10.
36. **Matsuda R, Morizane T.** *Helicobacter pylori* infection in dental professionals: a 6-year prospective study. *Helicobacter*. **2005**;10(4):307-311.
37. **Lin SK, Lambert JR, Schembri MA, Nicholson L, Johnson IH.** The prevalence of *Helicobacter pylori* in practising dental staff and dental students. *Australian Dental Journal*. **1998**;43(1):35-39.
38. **Hooi JK, Lai WY, Ng WK, et al.** Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. **2017**;153(2):420-429.
39. **UYANIKOĞLU A, Coşkun M, Binici DN, et al.** Frequency of *Helicobacter pylori* in patients underwent endoscopy. *Dicle Tıp Dergisi*. **2012**;39(2):197-200.
40. **Ozen A, Furman A, Berber M, et al.** The effect of *Helicobacter pylori* and economic status on growth parameters and leptin, ghrelin, and insulin-like growth factor (IGF)-I concentrations in children. *Helicobacter*. **2011**;16(1):55-65.
41. **Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S.** Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the ¹³C-Urea breath test. *BMC public health*. **2013**;13(1):1-12.
42. **SOYLU A, PEKER KD, YIRGIN H, et al.** Dispepsili Hastalarda *H. pylori* ve Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi. *Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*. **2019**;2(4):139-141.
43. **Köksal F, Topçu A, Söyletir G, Doğanay M.** İnfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji. *Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul*. **2002**;1643:1647.
44. **Matos R, Sousa HS, Nogueiro J, et al.** *Helicobacter* species binding to the human gastric mucosa. *Helicobacter*. **2022**;27(1):e12867.
45. **Bilgehan H.** Sert vücutlu sarmal hareketli, gram olumsuz bakteriler. *Klinik Mikrobiyoloji kitabında Barış Yayınları, İzmir*.10:143-144.
46. **Gastrit SM.** peptik ülser ve *H. pylori*. *Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabında Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul*. **2002**:787-789.
47. **Yokota Si, Konno M, Fujiwara Si, et al.** Intrafamilial, preferentially mother-to-child and intraspousal, *Helicobacter pylori* infection in Japan determined by multilocus sequence typing and random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Helicobacter*. **2015**;20(5):334-342.
48. **Fox J.** The non-*H. pylori* helicobacters: their expanding role in gastrointestinal and systemic diseases. *Gut*. **2002**;50(2):273-283.
49. **Owen RJ.** *Helicobacter*--species classification and identification. *Br Med Bull*. **1998**;54(1):17-30.
50. **Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al.** Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., Respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **1989**;39:397-405.
51. **Bahadori A, De Witte C, Agin M, et al.** Presence of gastric *Helicobacter* species in children suffering from gastric disorders in Southern Turkey. *Helicobacter*. **2018**;23(5):e12511.
52. **Ansari S, Yamaoka Y.** *Helicobacter pylori* BabA in adaptation for gastric colonization. *World journal of gastroenterology*. **2017**;23(23):4158.

53. Huang Y, Wang Q-l, Cheng D-d, Xu W-t, Lu N-h. Adhesion and invasion of gastric mucosa epithelial cells by *Helicobacter pylori*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. **2016**;6:159.
54. Aydin F, Karakaya E, Kayman T, Abay S, Saticioglu IB. *Helicobacter turcicus* sp. nov., a catalase-negative new member of the *Helicobacter* genus, isolated from Anatolian Ground Squirrel (*Spermophilus xanthoprimum*) in Turkey. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **2022**;72(5):005338.
55. Flahou B, Haesebrouck F, Smet A. Non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* infections in humans and animals. *Helicobacter pylori Research*: Springer; **2016**: 233-269.
56. Bento-Miranda M, Figueiredo C. *Helicobacter heilmannii* sensu lato: an overview of the infection in humans. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. **2014**;20(47):17779.
57. Berlamont H, Smet A, De Bruykere S, et al. Antimicrobial susceptibility pattern of *Helicobacter suis* isolates from pigs and macaques. *Veterinary microbiology*. **2019**;239:108459.
58. De Witte C, Taminiau B, Flahou B, et al. In-feed bambermycin medication induces anti-inflammatory effects and prevents parietal cell loss without influencing *Helicobacter suis* colonization in the stomach of mice. *Veterinary research*. **2018**;49(1):1-16.
59. Matos R, De Witte C, Smet A, et al. Antimicrobial susceptibility pattern of *Helicobacter heilmannii* and *Helicobacter ailurogastricus* isolates. *Microorganisms*. **2020**;8(6):957.
60. Boyanova L, Koumanova R, Lazarova E, Jeleu C. *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* in children. A Bulgarian study. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. **2003**;46(4):249-252.
61. Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, et al. Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical microbiology reviews*. **2009**;22(2):202-223.
62. Sykora J, Hejda V, Varvarovská J, Stozicky F, Gottrand F, Siala K. *Helicobacter heilmannii* related gastric ulcer in childhood. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. **2003**;36(3):410-413.
63. Joosten M, Lindén S, Rossi M, et al. Divergence between the highly virulent zoonotic pathogen *Helicobacter heilmannii* and its closest relative, the low-virulence “*Helicobacter ailurogastricus*” sp. nov. *Infection and immunity*. **2016**;84(1):293-306.
64. Matos R, Amorim I, Magalhães A, Haesebrouck F, Gärtner F, Reis CA. Adhesion of *Helicobacter* species to the human gastric mucosa: A deep look into glycans role. *Frontiers in molecular biosciences*. **2021**;8:656439.
65. Morgner A, Lehn N, Andersen LP, et al. *Helicobacter heilmannii*-associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. *Gastroenterology*. **2000**;118(5):821-828.
66. Ochoa S, Collado L. Enterohepatic *Helicobacter* species—clinical importance, host range, and zoonotic potential. *Critical Reviews in Microbiology*. **2021**;47(6):728-761.
67. Goodwin C, McCulloch R, Armstrong J, Wee S. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *Journal of medical microbiology*. **1985**;19(2):257-267.
68. Bode G, Mauch F, Malferttheiner P. The coccoid forms of *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability. *Epidemiology & Infection*. **1993**;111(3):483-490.

69. Nilius M, Ströhle A, Bode G, Malfertheiner P. Coccoid like forms (CLF) of *Helicobacter pylori*. Enzyme activity and antigenicity. *Zentralblatt für Bakteriologie*. **1993**;280(1-2):259-272.
70. Lleo M, Bonato B, Tafi M, Signoretto C, Boaretti M, Canepari P. Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. *Journal of Applied Microbiology*. **2001**;91(6):1095-1102.
71. Senoh M, Ghosh-Banerjee J, Ramamurthy T, et al. Conversion of viable but nonculturable enteric bacteria to culturable by co-culture with eukaryotic cells. *Microbiology and immunology*. **2012**;56(5):342-345.
72. Velázquez M, Feirtag JM. *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. *International journal of food microbiology*. **1999**;53(2-3):95-104.
73. Goodwin C, Armstrong J. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (Campylobacter pylori). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **1990**;9(1):1-13.
74. Geis G, Suerbaum S, Forsthoff B, Leying H, Opferkuch W. Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. *Journal of medical microbiology*. **1993**;38(5):371-377.
75. Percival SL, Williams DW. Chapter Seven - *Helicobacter pylori*. In: Percival SL, Yates MV, Williams DW, Chalmers RM, Gray NF, eds. *Microbiology of Waterborne Diseases (Second Edition)*. London: Academic Press; **2014**: 119-154.
76. Tomb J-F, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. **1997**;388(6642):539-547.
77. Doig P, de Jonge BL, Alm RA, et al. *Helicobacter pylori* physiology predicted from genomic comparison of two strains. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **1999**;63(3):675-707.
78. Lee JY, Kim N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Annals of translational medicine*. **2015**;3(1).
79. Muotiala A, Helander IM, Pyhälä L, Kosunen TU, Moran A. Low biological activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infection and immunity*. **1992**;60(4):1714-1716.
80. Vollmer W, Blanot D, De Pedro MA. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS microbiology reviews*. **2008**;32(2):149-167.
81. Mobley HL, Mendz GL, Hazell SL. *Helicobacter pylori*: physiology and genetics. **2001**.
82. Nielsen H, Birkholz S, Andersen LP, Moran AP. Neutrophil activation by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides. *Journal of Infectious Diseases*. **1994**;170(1):135-139.
83. Li H, Liao T, Debowski AW, et al. Lipopolysaccharide Structure and Biosynthesis in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. **2016**;21(6):445-461.
84. Sherburne R, Taylor DE. *Helicobacter pylori* expresses a complex surface carbohydrate, Lewis X. *Infection and immunity*. **1995**;63(12):4564-4568.
85. Li Q, Wang G, Shan JL, et al. MicroRNA-224 is upregulated in HepG2 cells and involved in cellular migration and invasion. *Journal of gastroenterology and hepatology*. **2010**;25(1):164-171.
86. Xue J, Li L, Li F, Li N, Li T, Li C. Expression of Lewis (b) blood group antigen interferes with oral dienogest therapy among women with adenomyosis. *Journal of Reproductive Immunology*. **2020**;137:103079.

87. **Mattos LCd.** Structural diversity and biological importance of ABO, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. **2016**;38:331-340.
88. **Roier S, Zingl FG, Cakar F, et al.** A novel mechanism for the biogenesis of outer membrane vesicles in Gram-negative bacteria. *Nature communications*. **2016**;7(1):1-13.
89. **Grande R, Di Marcantonio MC, Robuffo I, et al.** *Helicobacter pylori* ATCC 43629/NCTC 11639 outer membrane vesicles (OMVs) from biofilm and planktonic phase associated with extracellular DNA (eDNA). *Frontiers in microbiology*. **2015**;6:1369.
90. **Olofsson A, Vallström A, Petzold K, et al.** Biochemical and functional characterization of *Helicobacter pylori* vesicles. *Molecular microbiology*. **2010**;77(6):1539-1555.
91. **Yang Y, Hong Y, Cho E, Kim GB, Kim I-S.** Extracellular vesicles as a platform for membrane-associated therapeutic protein delivery. *Journal of extracellular vesicles*. **2018**;7(1):1440131.
92. **Uddin MJ, Dawan J, Jeon G, Yu T, He X, Ahn J.** The role of bacterial membrane vesicles in the dissemination of antibiotic resistance and as promising carriers for therapeutic agent delivery. *Microorganisms*. **2020**;8(5):670.
93. **Keenan J, Day T, Neal S, et al.** A role for the bacterial outer membrane in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *FEMS microbiology letters*. **2000**;182(2):259-264.
94. **Chmiela M, Walczak N, Rudnicka K.** *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles involvement in the infection development and *Helicobacter pylori*-related diseases. *Journal of biomedical science*. **2018**;25(1):1-11.
95. **Murray BO, Dawson RA, Alsharaf LM, Winter JA.** Protective effects of *Helicobacter pylori* membrane vesicles against stress and antimicrobial agents. *Microbiology*. **2020**;166(8):751.
96. **Oleastro M, Ménard A.** The role of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins in adherence and pathogenesis. *Biology*. **2013**;2(3):1110-1134.
97. **Marcus EA, Sachs G, Scott DR.** Acid-regulated gene expression of *Helicobacter pylori*: insight into acid protection and gastric colonization. *Helicobacter*. **2018**;23(3):e12490.
98. **Bina J, Alm R, Uria-Nickelsen M, Thomas S, Trust T, Hancock R.** *Helicobacter pylori* uptake and efflux: basis for intrinsic susceptibility to antibiotics in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2000**;44(2):248-254.
99. **Imkamp F, Lauener FN, Pohl D, et al.** Rapid characterization of virulence determinants in *Helicobacter pylori* isolated from non-atrophic gastritis patients by next-generation sequencing. *Journal of clinical medicine*. **2019**;8(7):1030.
100. **Cover TL, Blaser MJ.** Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *Journal of Biological Chemistry*. **1992**;267(15):10570-10575.
101. **da Costa DM, dos Santos Pereira E, Rabenhorst SHB.** What exists beyond cagA and vacA? *Helicobacter pylori* genes in gastric diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2015**;21(37):10563.
102. **Bauwens E, Joosten M, Taganna J, et al.** In silico proteomic and phylogenetic analysis of the outer membrane protein repertoire of gastric *Helicobacter* species. *Scientific reports*. **2018**;8(1):1-14.
103. **Ishijima N, Suzuki M, Ashida H, et al.** BabA-mediated adherence is a potentiator of the *Helicobacter pylori* type IV secretion system activity. *Journal of Biological Chemistry*. **2011**;286(28):25256-25264.

104. Alzahrani S, Lina TT, Gonzalez J, Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cells. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(36):12767.
105. El-Sayed MS, Musa N, Eltabbakh M, et al. Detection of *Helicobacter pylori* oipA and dupA genes among dyspeptic patients with chronic gastritis. *Alexandria Journal of Medicine*. **2020**;56(1):105-110.
106. Mahdavi J, Sondén B, Hurtig M, et al. *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science*. **2002**;297(5581):573-578.
107. Doohan D, Rezkitha YAA, Waskito LA, Yamaoka Y, Miftahussurur M. *Helicobacter pylori* BabA–SabA key roles in the adherence phase: the synergic mechanism for successful colonization and disease development. *Toxins*. **2021**;13(7):485.
108. Horridge DN, Begley AA, Kim J, Aravindan N, Fan K, Forsyth MH. Outer inflammatory protein a (OipA) of *Helicobacter pylori* is regulated by host cell contact and mediates CagA translocation and interleukin-8 response only in the presence of a functional cag pathogenicity island type IV secretion system. *Pathogens and disease*. **2017**;75(8):ftx113.
109. Farzi N, Yadegar A, Aghdaei HA, Yamaoka Y, Zali MR. Genetic diversity and functional analysis of oipA gene in association with other virulence factors among *Helicobacter pylori* isolates from Iranian patients with different gastric diseases. *Infection, Genetics and Evolution*. **2018**;60:26-34.
110. Al-Maleki AR, Loke MF, Lui SY, et al. *Helicobacter pylori* outer inflammatory protein A (O ip A) suppresses apoptosis of AGS gastric cells in vitro. *Cellular Microbiology*. **2017**;19(12):e12771.
111. Tegtmeyer N, Harrer A, Schmitt V, Singer BB, Backert S. Expression of CEACAM1 or CEACAM5 in AZ-521 cells restores the type IV secretion deficiency for translocation of CagA by *Helicobacter pylori*. *Cellular Microbiology*. **2019**;21(1):e12965.
112. Sharndama HC, Mba IE. *Helicobacter pylori*: An up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. *Brazilian Journal of Microbiology*. **2022**:1-18.
113. Xu C, Soyfoo DM, Wu Y, Xu S. Virulence of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins: an updated review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. **2020**;39(10):1821-1830.
114. Suerbaum S, Josenhans C, Labigne A. Cloning and genetic characterization of the *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustelae* flaB flagellin genes and construction of *H. pylori* flaA- and flaB-negative mutants by electroporation-mediated allelic exchange. *Journal of bacteriology*. **1993**;175(11):3278-3288.
115. Praszquier J, Sutton P, Ferrero RL. Virulence mechanisms of *Helicobacter pylori*: an overview. *Helicobacter pylori Research*. **2016**:57-87.
116. McGee DJ, Mobley HL. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Current opinion in gastroenterology*. **2000**;16(1):24-31.
117. Mascellino MT, De Angelis M, Al Ismail D, Oliva A. Virulence Markers, Genotypic versus Phenotypic Resistance and New Treatment Strategies in *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter pylori-From First Isolation to 2021*: IntechOpen; **2021**.
118. Berstad A, Berstad K, Berstad A. pH-activated phospholipase A 2: An important mucosal barrier breaker in peptic ulcer disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. **2002**;37(6):738-742.

119. Lusini P, Figura N, Valassina M, et al. Increased phospholipase activity in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with gastric carcinoma. *Digestive and liver disease*. **2005**;37(4):232-239.
120. Sitaraman R, Israel DA, Romero-Gallo J, Peek Jr RM. Cell-associated hemolysis induced by *Helicobacter pylori* is mediated by phospholipases with mitogen-activated protein kinase-activating properties. *Journal of clinical microbiology*. **2012**;50(3):1014-1018.
121. Stein SC, Faber E, Bats SH, et al. *Helicobacter pylori* modulates host cell responses by CagT4SS-dependent translocation of an intermediate metabolite of LPS inner core heptose biosynthesis. *PLoS pathogens*. **2017**;13(7):e1006514.
122. Hildebrandt E, McGee DJ. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide modification, Lewis antigen expression, and gastric colonization are cholesterol-dependent. *BMC microbiology*. **2009**;9(1):1-15.
123. Baj J, Forma A, Sitarz M, et al. *Helicobacter pylori* virulence factors—mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. *Cells*. **2020**;10(1):27.
124. Eaton K, Logan S, Baker P, Peterson R, Monteiro M, Altman E. *Helicobacter pylori* with a truncated lipopolysaccharide O chain fails to induce gastritis in SCID mice injected with splenocytes from wild-type C57BL/6J mice. *Infection and immunity*. **2004**;72(7):3925-3931.
125. Gall A, Gaudet RG, Gray-Owen SD, Salama NR. TIFA signaling in gastric epithelial cells initiates the cag type 4 secretion system-dependent innate immune response to *Helicobacter pylori* infection. *MBio*. **2017**;8(4):e01168-01117.
126. Li H, Tang H, Debowski AW, Stubbs KA, Marshall BJ, Benghezal M. Lipopolysaccharide structural differences between Western and Asian *Helicobacter pylori* strains. *Toxins*. **2018**;10(9):364.
127. Yokota S-i, Amano K-i, Nishitani C, Arika S, Kuroki Y, Fujii N. Implication of antigenic conversion of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides that involve interaction with surfactant protein D. *Infection and immunity*. **2012**;80(8):2956-2962.
128. Lepper PM, Triantafilou M, Schumann C, Schneider EM, Triantafilou K. Lipopolysaccharides from *Helicobacter pylori* can act as antagonists for Toll-like receptor 4. *Cellular microbiology*. **2005**;7(4):519-528.
129. Chavarría-Velázquez CO, Torres-Martínez AC, Montaña LF, Rendón-Huerta EP. TLR2 activation induced by *H. pylori* LPS promotes the differential expression of claudin-4,-6,-7 and-9 via either STAT3 and ERK1/2 in AGS cells. *Immunobiology*. **2018**;223(1):38-48.
130. Meliț LE, Mărginean CO, Mărginean CD, Mărginean MO. The relationship between toll-like receptors and *Helicobacter pylori*-related gastropathies: still a controversial topic. *Journal of Immunology Research*. **2019**;2019.
131. Chochi K, Ichikura T, Kinoshita M, et al. *Helicobacter pylori* augments growth of gastric cancers via the lipopolysaccharide-toll-like receptor 4 pathway whereas its lipopolysaccharide attenuates antitumor activities of human mononuclear cells. *Clinical Cancer Research*. **2008**;14(10):2909-2917.
132. Kawahara T, Teshima S, Oka A, Sugiyama T, Kishi K, Rokutan K. Type I *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide stimulates toll-like receptor 4 and activates mitogen oxidase 1 in gastric pit cells. *Infection and Immunity*. **2001**;69(7):4382-4389.
133. Li H, Xia JQ, Zhu FS, et al. LPS promotes the expression of PD-L1 in gastric cancer cells through NF-κB activation. *Journal of cellular biochemistry*. **2018**;119(12):9997-10004.

134. Semeraro N, Montemurro P, Piccoli C, et al. Effect of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide (LPS) and LPS derivatives on the production of tissue factor and plasminogen activator inhibitor type 2 by human blood mononuclear cells. *Journal of Infectious Diseases*. **1996**;174(6):1255-1260.
135. Yokota S-i, Okabayashi T, Rehli M, Fujii N, Amano K-i. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides upregulate toll-like receptor 4 expression and proliferation of gastric epithelial cells via the MEK1/2-ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway. *Infection and Immunity*. **2010**;78(1):468-476.
136. Li N, Xu H, Ou Y, et al. LPS-induced CXCR7 expression promotes gastric Cancer proliferation and migration via the TLR4/MD-2 pathway. *Diagnostic pathology*. **2019**;14(1):1-10.
137. Slomiany B, Slomiany A. *Helicobacter pylori* LPS-induced gastric mucosal spleen tyrosine kinase (Syk) recruitment to TLR4 and activation occurs with the involvement of protein kinase C δ . *Inflammopharmacology*. **2018**;26(3):805-815.
138. Slomiany B, Slomiany A. Role of LPS-elicited signaling in triggering gastric mucosal inflammatory responses to *H. pylori*: modulatory effect of ghrelin. *Inflammopharmacology*. **2017**;25(4):415-429.
139. Hansen P, Petersen SB, Varming K, Nielsen H. *Helicobacter pylori* Additive Effects of *Helicobacter pylori* Lipopolysaccharide and Proteins in Monocyte Inflammatory Responses. *Scandinavian journal of gastroenterology*. **2002**;37(7):765-771.
140. Xu L, Gong C, Li G, et al. Ebselen suppresses inflammation induced by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide via the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*. **2018**;17(5):6847-6851.
141. Pan X, Li Y, Feng J, et al. A functional polymorphism T309G in MDM2 gene promoter, intensified by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide, is associated with both an increased susceptibility and poor prognosis of gastric carcinoma in Chinese patients. *Bmc Cancer*. **2013**;13(1):1-10.
142. Smith SM, Freeley M, Moynagh PN, Kelleher DP. Differential modulation of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide-mediated TLR2 signaling by individual Pellino proteins. *Helicobacter*. Feb **2017**;22(1).
143. Slomiany BL, Slomiany A. Disruption in gastric mucin synthesis by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide involves ERK and p38 mitogen-activated protein kinase participation. *Biochemical and biophysical research communications*. **2002**;294(2):220-224.
144. de Brito BB, da Silva FAF, Soares AS, et al. Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection. *World journal of gastroenterology*. **2019**;25(37):5578.
145. Becker KW, Skaar EP. Metal limitation and toxicity at the interface between host and pathogen. *FEMS microbiology reviews*. **2014**;38(6):1235-1249.
146. Camilo V, Sugiyama T, Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. **2017**;22:e12405.
147. Ansari S, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* virulence factor cytotoxin-associated gene A (CagA)-mediated gastric pathogenicity. *International journal of molecular sciences*. **2020**;21(19):7430.
148. Olson JW, Maier RJ. Molecular hydrogen as an energy source for *Helicobacter pylori*. *Science*. **2002**;298(5599):1788-1790.
149. Reshetnyak VI, Burmistrov AI, Maev IV. *Helicobacter pylori*: Commensal, symbiont or pathogen? *World Journal of Gastroenterology*. **2021**;27(7):545.

150. Athmann C, Zeng N, Kang T, et al. Local pH elevation mediated by the intrabacterial urease of *Helicobacter pylori* cocultured with gastric cells. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(3):339-347.
151. Miller EF, Maier RJ. Ammonium metabolism enzymes aid *Helicobacter pylori* acid resistance. *Journal of bacteriology*. 2014;196(17):3074-3081.
152. Nolan KJ, McGee DJ, Mitchell HM, et al. In vivo behavior of a *Helicobacter pylori* SS1 nixA mutant with reduced urease activity. *Infection and immunity*. 2002;70(2):685-691.
153. Schmalstig AA, Benoit SL, Misra SK, Sharp JS, Maier RJ. Noncatalytic antioxidant role for *Helicobacter pylori* urease. *Journal of bacteriology*. 2018;200(17):e00124-00118.
154. Can F, Karahan C, Dolapci I, Demirbilek M, Tekeli A, Arslan H. Urease activity and urea gene sequencing of coccoid forms of *H. pylori* induced by different factors. *Current Microbiology*. 2008;56(2):150-155.
155. Suerbaum S. The complex flagella of gastric *Helicobacter* species. *Trends in microbiology*. 1995;3(5):168-170.
156. Martínez LE, Hardcastle JM, Wang J, et al. *Helicobacter pylori* strains vary cell shape and flagellum number to maintain robust motility in viscous environments. *Molecular microbiology*. 2016;99(1):88-110.
157. Merckx-Jacques A, Obhi R, Bethune G, Creuzenet C. The *Helicobacter pylori* flaA1 and wbpB genes control lipopolysaccharide and flagellum synthesis and function. *Journal of bacteriology*. 2004;186(8):2253-2265.
158. Paul W, Lane MC, Porwollik S. *Helicobacter pylori* motility. *Microbes and infection*. 2000;2(10):1207-1214.
159. Ottemann KM, Lowenthal AC. *Helicobacter pylori* uses motility for initial colonization and to attain robust infection. *Infection and immunity*. 2002;70(4):1984-1990.
160. Lowenthal AC, Hill M, Sycuro LK, Mehmood K, Salama NR, Ottemann KM. Functional analysis of the *Helicobacter pylori* flagellar switch proteins. *Journal of bacteriology*. 2009;191(23):7147-7156.
161. Lertsethtakarn P, Ottemann KM, Hendrixson DR. Motility and chemotaxis in *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Annual review of microbiology*. 2011;65:389.
162. Gu H. Role of Flagella in the Pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Current microbiology*. 2017;74(7):863-869.
163. Raju D, Hussey S, Ang M, et al. Vacuolating cytotoxin and variants in Atg16L1 that disrupt autophagy promote *Helicobacter pylori* infection in humans. *Gastroenterology*. 2012;142(5):1160-1171.
164. Wada A, Yamasaki E, Hirayama T. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA, is responsible for gastric ulceration. *Journal of biochemistry*. 2004;136(6):741-746.
165. McClain MS, Beckett AC, Cover TL. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin and gastric cancer. *Toxins*. 2017;9(10):316.
166. Keikha M, Ali-Hassanzadeh M, Karbalaee M. Association of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and peptic ulcer in Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *BMC gastroenterology*. 2020;20(1):1-11.

167. Ricci V. Relationship between VacA toxin and host cell autophagy in *Helicobacter pylori* infection of the human stomach: a few answers, many questions. *Toxins*. **2016**;8(7):203.
168. Chauhan N, Tay ACY, Marshall BJ, Jain U. *Helicobacter pylori* VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview. *Helicobacter*. **2019**;24(1):e12544.
169. Abdullah M, Greenfield LK, Bronte-Tinkew D, Capurro MI, Rizzuti D, Jones NL. VacA promotes CagA accumulation in gastric epithelial cells during *Helicobacter pylori* infection. *Scientific reports*. **2019**;9(1):1-9.
170. Bridge DR, Merrell DS. Polymorphism in the *Helicobacter pylori* CagA and VacA toxins and disease. *Gut microbes*. **2013**;4(2):101-117.
171. Wang D, Li Q, Gong Y, Yuan Y. The association between vacA or cagA status and eradication outcome of *Helicobacter pylori* infection: A meta-analysis. *PLoS One*. **2017**;12(5):e0177455.
172. Eskandari-Nasab E, Sepanjnia A, Moghadampour M, et al. Circulating levels of interleukin (IL)-12 and IL-13 in *Helicobacter pylori*-infected patients, and their associations with bacterial CagA and VacA virulence factors. *Scandinavian journal of infectious diseases*. **2013**;45(5):342-349.
173. Sahara S, Sugimoto M, Vilaichone R-K, et al. Role of *Helicobacter pylori* cagA EPIYA motif and vacA genotypes for the development of gastrointestinal diseases in Southeast Asian countries: A meta-analysis. *BMC infectious diseases*. **2012**;12(1):1-13.
174. Ferreira RM, Machado JC, Figueiredo C. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genotypes in gastric carcinoma. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. **2014**;28(6):1003-1015.
175. Chowdhury R. Host Cell Contact Induces Fur-dependent Expression of Virulence Factors CagA and VacA in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. **2014**;19(1):17-25.
176. Figura N, Valassina M, Moretti E, et al. Histological variety of gastric carcinoma and *Helicobacter pylori* cagA and vacA polymorphism. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. **2015**;27(9):1017-1021.
177. Capurro MI, Greenfield LK, Prashar A, et al. VacA generates a protective intracellular reservoir for *Helicobacter pylori* that is eliminated by activation of the lysosomal calcium channel TRPML1. *Nature microbiology*. **2019**;4(8):1411-1423.
178. Bridge DR, Blum FC, Jang S, Kim J, Cha J-H, Merrell DS. Creation and initial characterization of isogenic *Helicobacter pylori* CagA EPIYA variants reveals differential activation of host cell signaling pathways. *Scientific reports*. **2017**;7(1):1-14.
179. Sukri A, Hanafiah A, Mohamad Zin N, Kosai NR. Epidemiology and role of *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric cancer carcinogenesis. *Apmis*. **2020**;128(2):150-161.
180. Suzuki M, Mimuro H, Kiga K, et al. *Helicobacter pylori* CagA phosphorylation-independent function in epithelial proliferation and inflammation. *Cell host & microbe*. **2009**;5(1):23-34.
181. Roesler BM, Costa SCB, Zeitune JMR. Virulence factors of *Helicobacter pylori* and their relationship with the development of early and advanced distal intestinal type gastric adenocarcinoma. *Gastritis and Gastric Cancer—New Insights in Gastroprotection, Diagnosis and Treatments*. **2011**:259-280.
182. Hassan AA, Youssef AI, Ghazal AA, et al. Blood group antigen-Binding Adhesion2 (BabA2) gene in gastric tissue biopsies as a diagnostic biomarker for *Helicobacter pylori* infection. *Human Antibodies*. **2019**;27(3):193-199.

183. **Torres LE, Melián K, Moreno A, et al.** Prevalence of *vacA*, *cagA* and *babA2* genes in Cuban *Helicobacter pylori* isolates. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2009**;15(2):204.
184. **Thorell K, Hosseini S, Palacios Gonzáles RVP, et al.** Identification of a Latin American-specific BabA adhesin variant through whole genome sequencing of *Helicobacter pylori* patient isolates from Nicaragua. *BMC Evolutionary Biology*. **2016**;16(1):1-16.
185. **Yamaoka Y.** Roles of *Helicobacter pylori* BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2008**;14(27):4265.
186. **Benktander J, Ångström J, Breimer ME, Teneberg S.** Redefinition of the carbohydrate binding specificity of *Helicobacter pylori* BabA adhesin. *Journal of Biological Chemistry*. **2012**;287(38):31712-31724.
187. **Lindén S, Nordman H, Hedenbro J, Hurtig M, Borén T, Carlstedt I.** Strain-and blood group-dependent binding of *Helicobacter pylori* to human gastric MUC5AC glycoforms. *Gastroenterology*. **2002**;123(6):1923-1930.
188. **Sijmons D, Guy AJ, Walduck AK, Ramsland PA.** *Helicobacter pylori* and the Role of Lipopolysaccharide Variation in Innate Immune Evasion. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13.
189. **Saberi S, Schmidt A, Eybpoosh S, et al.** *Helicobacter pylori* strains from duodenal ulcer patients exhibit mixed babA/B genotypes with low levels of BabA adhesin and Lewis b binding. *Digestive diseases and sciences*. **2016**;61(10):2868-2877.
190. **Ohno T, Vallström A, Rugge M, et al.** Effects of blood group antigen-binding adhesin expression during *Helicobacter pylori* infection of mongolian gerbils. *Journal of Infectious Diseases*. **2011**;203(5):726-735.
191. **Poursina F, Faghri J, Moghim S, et al.** Assessment of *cagE* and *babA* mRNA expression during morphological conversion of *Helicobacter pylori* from spiral to coccoid. *Current microbiology*. **2013**;66(4):406-413.
192. **Hennig EE, Mernaugh R, Edl J, Cao P, Cover TL.** Heterogeneity among *Helicobacter pylori* strains in expression of the outer membrane protein BabA. *Infection and immunity*. **2004**;72(6):3429-3435.
193. **Sáenz JB, Vargas N, Mills JC.** Tropism for spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia allows *Helicobacter pylori* to expand its intragastric niche. *Gastroenterology*. **2019**;156(1):160-174. e167.
194. **Benktander J, Barone A, Johansson MM, Teneberg S.** *Helicobacter pylori* SabA binding gangliosides of human stomach. *Virulence*. **2018**;9(1):738-751.
195. **Mahdavi J, Sonden B, Hurtig M, Olfat FO, Forsberg L, Roche N, Angstrom J, Lansson T, Teneberg S, Karlsson KA, Altraja S, Wadstrom T, Kersulyte D, Berg DE, Dubois A, Petersson C, Magnusson KE, Norberg T, Lindh F, Lundskog BB, Arnqvist A, Hammarstrom L, Boren T.** *Helicobacter pylori* Sab A adhesin in persistent infection and chronic inflammation Science. **2002**;297:573-578.
196. **Marcos NT, Magalhães A, Ferreira B, et al.** *Helicobacter pylori* induces β 3GnT5 in human gastric cell lines, modulating expression of the SabA ligand sialyl-Lewis x. *The Journal of clinical investigation*. **2008**;118(6):2325-2336.
197. **Goodwin AC, Weinberger DM, Ford CB, et al.** Expression of the *Helicobacter pylori* adhesin SabA is controlled via phase variation and the ArsRS signal transduction system. *Microbiology*. **2008**;154(8):2231-2240.
198. **Talarico S, Whitefield SE, Fero J, Haas R, Salama NR.** Regulation of *Helicobacter pylori* adherence by gene conversion. *Molecular microbiology*. **2012**;84(6):1050-1061.

199. Zhang J, Qian J, Zhang X, Zou Q. Outer membrane inflammatory protein A, a new virulence factor involved in the pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Molecular biology reports*. 2014;41(12):7807-7814.
200. Teymournejad O, Mobarez AM, Hassan ZM. Binding of the *Helicobacter pylori* OipA causes apoptosis of host cells via modulation of Bax/Bcl-2 levels. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-8.
201. Sallas ML, Dos Santos MP, Orcini WA, et al. Status (on/off) of oipA gene: Their associations with gastritis and gastric cancer and geographic origins. *Archives of microbiology*. 2019;201(1):93-97.
202. Teymournejad O, Mobarez AM, Hassan ZM, Noori S, Moazzeni SM, Khoramabadi N. Cloning, expression, purification and toxicity evaluation of *Helicobacter pylori* outer inflammatory protein A. *Indian journal of microbiology*. 2013;53(4):391-394.
203. Sugimoto M, Ohno T, Graham DY, Yamaoka Y. Gastric mucosal interleukin-17 and-18 mRNA expression in *Helicobacter pylori*-induced Mongolian gerbils. *Cancer science*. 2009;100(11):2152-2159.
204. Zhao Q, Yin W, Zhao R, et al. Outer inflammatory protein of *Helicobacter pylori* impacts IL-8 expression, adherence, cell apoptosis and cell cycle of gastric cells independent of its copy number. *Medical Microbiology and Immunology*. 2020;209(5):621-630.
205. Du J, Li X-H, Liu F, Li W-Q, Gong Z-C, Li Y-J. Role of the outer inflammatory protein a/cystine–glutamate transporter pathway in gastric mucosal injury induced by *Helicobacter pylori*. *Clinical and translational gastroenterology*. 2020;11(5).
206. van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al. Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 1998;115(1):58-66.
207. Boyanova L, Yordanov D, Gergova G, Markovska R, Mitov I. Association of iceA and babA genotypes in *Helicobacter pylori* strains with patient and strain characteristics. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2010;98(3):343-350.
208. 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):e30354.
209. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. *Journal of clinical microbiology*. 1999;37(7):2274-2279.
210. Wei G-C, Chen J, Liu A-Y, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA and iceA genotypes and correlation with clinical outcome. *Experimental and therapeutic medicine*. 2012;4(6):1039-1044.
211. Ma YJ, Duan GC, Zhang RG, Fan QT, Zhang WD. Mutation of iceA in *Helicobacter pylori* compromised IL-8 induction from human gastric epithelial cells. *Journal of basic microbiology*. 2010;50(S1):S83-S88.
212. Xu Q, Blaser MJ. Promoters of the CATG-specific methyltransferase gene hpyIM differ between iceA1 and iceA2 *Helicobacter pylori* strains. *Journal of bacteriology*. 2001;183(13):3875-3884.
213. Chiurillo MA, Moran Y, Cañas M, Valderrama E, Alvarez A, Armanie E. Combination of *Helicobacter pylori*-iceA2 and proinflammatory interleukin-1 polymorphisms is associated with the severity of histological changes in Venezuelan chronic gastritis patients. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2010;59(2):170-176.

214. Nishiya D, Shimoyama T, Fukuda S, Yoshimura T, Tanaka M, Munakata A. Evaluation of the clinical relevance of the *iceA1* gene in patients with *Helicobacter pylori* infection in Japan. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2000;35(1):36-39.
215. Loh JT, Torres VJ, Scott Algood HM, McClain MS, Cover TL. *Helicobacter pylori* HopQ outer membrane protein attenuates bacterial adherence to gastric epithelial cells. *FEMS microbiology letters*. 2008;289(1):53-58.
216. Ohno T, Sugimoto M, Nagashima A, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* hopQ genotype and clinical outcome in Asian and Western populations. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2009;24(3):462-468.
217. Yakoob J, Abbas Z, Khan R, et al. *Helicobacter pylori* outer membrane protein Q allele distribution is associated with distinct pathologies in Pakistan. *Infection, Genetics and Evolution*. 2016;37:57-62.
218. Hamway Y, Taxauer K, Moonens K, et al. Cysteine Residues in *Helicobacter pylori* Adhesin HopQ Are Required for CEACAM–HopQ Interaction and Subsequent CagA Translocation. *Microorganisms*. 2020;8(4):465.
219. Xia R, Zhang B, Wang X, Jia Q. Pathogenic interactions between *Helicobacter pylori* adhesion protein HopQ and human cell surface adhesion molecules CEACAMs in gastric epithelial cells. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2019;22(7):710.
220. Königer V, Holsten L, Harrison U, et al. *Helicobacter pylori* exploits human CEACAMs via HopQ for adherence and translocation of CagA. *Nature microbiology*. 2016;2(1):1-12.
221. Belogolova E, Bauer B, Pempaiah M, et al. *Helicobacter pylori* outer membrane protein HopQ identified as a novel T4SS-associated virulence factor. *Cellular microbiology*. 2013;15(11):1896-1912.
222. Imagawa S, Ito M, Yoshihara M, Eguchi H, Tanaka S, Chayama K. *Helicobacter pylori* dupA and gastric acid secretion are negatively associated with gastric cancer development. *Journal of medical microbiology*. 2010;59(12):1484-1489.
223. Zhang Z, Zheng Q, Chen X, Xiao S, Liu W, Lu H. The *Helicobacter pylori* duodenal ulcer promoting gene, dupA in China. *BMC gastroenterology*. 2008;8(1):1-6.
224. Douraghi M, Mohammadi M, Oghalaie A, et al. dupA as a risk determinant in *Helicobacter pylori* infection. *Journal of medical microbiology*. 2008;57(5):554-562.
225. Takahashi A, Shiota S, Matsunari O, et al. Intact Long-Type dup A as a Marker for Gastroduodenal Diseases in O kinawan Subpopulation, Japan. *Helicobacter*. 2013;18(1):66-72.
226. Molina-Castro S, Garita-Cambronero J, Malespín-Bendaña W, Une C, Ramírez V. Virulence factor genotyping of *Helicobacter pylori* isolated from Costa Rican dyspeptic patients. *Microbial pathogenesis*. 2019;128:276-280.
227. Wang M-y, Chen C, Shao C, et al. Intact long-type DupA protein in *Helicobacter pylori* is an ATPase involved in multifunctional biological activities. *Microbial pathogenesis*. 2015;81:53-59.
228. Hussein N. The association of dupA and *Helicobacter pylori*-related gastroduodenal diseases. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2010;29(7):817-821.
229. Wang M-y, Shao C, Li J, et al. *Helicobacter pylori* with the Intact dupA Cluster is more Virulent than the Strains with the Incomplete dupA Cluster. *Current Microbiology*. 2015;71(1):16-23.

230. Shiota S, Matsunari O, Watada M, Hanada K, Yamaoka Y. Systematic review and meta-analysis: the relationship between the *Helicobacter pylori* dupA gene and clinical outcomes. *Gut pathogens*. **2010**;2(1):1-6.
231. Queiroz DM, Rocha GA, Rocha AM, et al. dupA polymorphisms and risk of *Helicobacter pylori*-associated diseases. *International Journal of Medical Microbiology*. **2011**;301(3):225-228.
232. Jung SW, Sugimoto M, Shiota S, Graham DY, Yamaoka Y. The intact dupA cluster is a more reliable *Helicobacter pylori* virulence marker than dupA alone. *Infection and immunity*. **2012**;80(1):381-387.
233. Hussein NR, Argent RH, Marx CK, Patel SR, Robinson K, Atherton JC. *Helicobacter pylori* dupA is polymorphic, and its active form induces proinflammatory cytokine secretion by mononuclear cells. *The Journal of infectious diseases*. **2010**;202(2):261-269.
234. Odenbreit S, Faller G, Haas R. Role of the alpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue. *International journal of medical microbiology*. **2002**;292(3-4):247-256.
235. De Jonge R, Durrani Z, Rijpkema SG, Kuipers EJ, van Vliet AH, Kusters JG. Role of the *Helicobacter pylori* outer-membrane proteins AlpA and AlpB in colonization of the guinea pig stomach. *Journal of medical microbiology*. **2004**;53(5):375-379.
236. Odenbreit S, Till M, Hofreuter D, Faller G, Haas R. Genetic and functional characterization of the alpAB gene locus essential for the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue. *Molecular microbiology*. **1999**;31(5):1537-1548.
237. Lu H, Wu JY, Beswick EJ, et al. Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains. *Journal of Biological Chemistry*. **2007**;282(9):6242-6254.
238. Xue J, Bai Y, Chen Y, et al. Expression of *Helicobacter pylori* AlpA protein and its immunogenicity. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. **2005**;11(15):2260.
239. Peck B, Ortkamp M, Diehl KD, Hundt E, Knapp B. Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori*. *Nucleic acids research*. **1999**;27(16):3325-3333.
240. Kennemann L, Brenneke B, Andres S, et al. In vivo sequence variation in HopZ, a phase-variable outer membrane protein of *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. **2012**;80(12):4364-4373.
241. Harris AG, Hazell SL. Localisation of *Helicobacter pylori* catalase in both the periplasm and cytoplasm, and its dependence on the twin-arginine target protein, KapA, for activity. *FEMS microbiology letters*. **2003**;229(2):283-289.
242. Mahawar M, Tran V, Sharp JS, Maier RJ. Synergistic roles of *Helicobacter pylori* methionine sulfoxide reductase and GroEL in repairing oxidant-damaged catalase. *Journal of Biological Chemistry*. **2011**;286(21):19159-19169.
243. Boonjakuakul JK, Syvanen M, Suryaprasad A, Bowlus CL, Solnick JV. Transcription profile of *Helicobacter pylori* in the human stomach reflects its physiology in vivo. *Journal of Infectious Diseases*. **2004**;190(5):946-956.
244. Switala J, Loewen PC. Diversity of properties among catalases. *Archives of biochemistry and biophysics*. **2002**;401(2):145-154.
245. Benoit SL, Maier RJ. *Helicobacter* Catalase Devoid of Catalytic Activity Protects the Bacterium against Oxidative Stress*♦. *Journal of Biological Chemistry*. **2016**;291(45):23366-23373.

246. Richter C, Mukherjee O, Ermert D, et al. Moonlighting of *Helicobacter pylori* catalase protects against complement-mediated killing by utilising the host molecule vitronectin. *Scientific reports*. 2016;6(1):1-13.
247. Ramarao N, Gray-Owen SD, Meyer TF. *Helicobacter pylori* induces but survives the extracellular release of oxygen radicals from professional phagocytes using its catalase activity. *Molecular microbiology*. 2000;38(1):103-113.
248. Basu M, Czinn SJ, Blanchard TG. Absence of catalase reduces long-term survival of *Helicobacter pylori* in macrophage phagosomes. *Helicobacter*. 2004;9(3):211-216.
249. Harris AG, Wilson JE, Danon SJ, Dixon MF, Donegan K, Hazell SL. Catalase (KatA) and KatA-associated protein (KapA) are essential to persistent colonization in the *Helicobacter pylori* SS1 mouse model. *Microbiology*. 2003;149(3):665-672.
250. Hazell SL, Graham DY. Unsaturated fatty acids and viability of *Helicobacter (Campylobacter) pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990;28(5):1060-1061.
251. Mori M, Suzuki H, Suzuki M, Kai A, Miura S, Ishii H. Catalase and superoxide dismutase secreted from *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 1997;2(2):100-105.
252. Guy B, Krell T, Sanchez V, Kennel A, Manin C, Sodoyer R. Do Th1 or Th2 sequence motifs exist in proteins?: Identification of amphipathic immunomodulatory domains in *Helicobacter pylori* catalase. *Immunology letters*. 2005;96(2):261-275.
253. Harris AG, Hinds FE, Beckhouse AG, Kolesnikow T, Hazell SL. Resistance to hydrogen peroxide in *Helicobacter pylori*: role of catalase (KatA) and Fur, and functional analysis of a novel gene product designated 'KatA-associated protein', KapA (HP0874). *Microbiology*. 2002;148(12):3813-3825.
254. Miyashita M, Joh T, Watanabe K, et al. Immune responses in mice to intranasal and intracutaneous administration of a DNA vaccine encoding *Helicobacter pylori*-catalase. *Vaccine*. 2002;20(17-18):2336-2342.
255. Švagelj D, Terzić V, Dovhanj J, Švagelj M, Cvrković M, Švagelj I. Superoxide dismutases in chronic gastritis. *Apmis*. 2016;124(4):252-256.
256. Smoot DT, Elliott TB, Verspaget HW, et al. Influence of *Helicobacter pylori* on reactive oxygen-induced gastric epithelial cell injury. *Carcinogenesis*. 2000;21(11):2091-2095.
257. Bauer G, Bereswill S, Aichele P, Glocker E. *Helicobacter pylori* protects oncogenically transformed cells from reactive oxygen species-mediated intercellular induction of apoptosis. *Carcinogenesis*. 2014;35(7):1582-1591.
258. Negovan A, Iancu M, Tripon F, Crauciuc A, Mocan S, Bănescu C. The CAT-262 C> T, MnSOD Ala16Val, GPX1 Pro198Leu polymorphisms related to oxidative stress and the presence of gastric lesions. *J Gastrointest Liver Dis*. 2018;27(4):371-378.
259. Stent A, Every AL, Chionh YT, Ng GZ, Sutton P. Superoxide dismutase from *Helicobacter pylori* suppresses the production of pro-inflammatory cytokines during in vivo infection. *Helicobacter*. 2018;23(1):e12459.
260. Noguchi K, Kato K, Moriya T, et al. Analysis of cell damage in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Pathology international*. 2002;52(2):110-118.
261. Seyler Jr RW, Olson JW, Maier RJ. Superoxide dismutase-deficient mutants of *Helicobacter pylori* are hypersensitive to oxidative stress and defective in host colonization. *Infection and immunity*. 2001;69(6):4034-4040.

262. Morishita K, Takeuchi H, Morimoto N, et al. Superoxide dismutase activity of *Helicobacter pylori* per se from 158 clinical isolates and the characteristics. *Microbiology and immunology*. 2012;56(4):262-272.
263. Mendz GL, Hazell SL. The urea cycle of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*. 1996;142(10):2959-2967.
264. McGee DJ, Zabaleta J, Viator RJ, Testerman TL, Ochoa AC, Mendz GL. Purification and characterization of *Helicobacter pylori* arginase, RocF: unique features among the arginase superfamily. *European Journal of Biochemistry*. 2004;271(10):1952-1962.
265. Zhang J, Zhang X, Wu C, et al. Expression, purification and characterization of arginase from *Helicobacter pylori* in its apo form. *PLoS One*. 2011;6(10):e26205.
266. Zhang X, Zhang J, Zhang R, et al. Structural, enzymatic and biochemical studies on *Helicobacter pylori* arginase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2013;45(5):995-1002.
267. Zabaleta J, McGee DJ, Zea AH, et al. *Helicobacter pylori* arginase inhibits T cell proliferation and reduces the expression of the TCR ζ -chain (CD3 ζ). *The Journal of Immunology*. 2004;173(1):586-593.
268. Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, et al. *Helicobacter pylori* arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(24):13844-13849.
269. Lewis ND, Asim M, Barry DP, et al. Arginase II restricts host defense to *Helicobacter pylori* by attenuating inducible nitric oxide synthase translation in macrophages. *The Journal of Immunology*. 2010;184(5):2572-2582.
270. Hardbower DM, Asim M, Murray-Stewart T, et al. Arginase 2 deletion leads to enhanced M1 macrophage activation and upregulated polyamine metabolism in response to *Helicobacter pylori* infection. *Amino acids*. 2016;48(10):2375-2388.
271. Kim SH, Sierra RA, McGee DJ, Zabaleta J. Transcriptional profiling of gastric epithelial cells infected with wild type or arginase-deficient *Helicobacter pylori*. *BMC microbiology*. 2012;12(1):1-9.
272. Gobert AP, Cheng Y, Wang J-Y, et al. *Helicobacter pylori* induces macrophage apoptosis by activation of arginase II. *The Journal of Immunology*. 2002;168(9):4692-4700.
273. Hoshino H, Tsuchida A, Kametani K, et al. Membrane-associated activation of cholesterol α -glucosyltransferase, an enzyme responsible for biosynthesis of cholesteryl- α -D-glucopyranoside in *Helicobacter pylori* critical for its survival. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2011;59(1):98-105.
274. Morey P, Meyer TF. The sweeping role of cholesterol depletion in the persistence of *Helicobacter pylori* infections. *Molecular Mechanisms of Inflammation: Induction, Resolution and Escape by Helicobacter pylori*: Springer; 2019: 209-227.
275. Wunder C, Churin Y, Winau F, et al. Cholesterol glucosylation promotes immune evasion by *Helicobacter pylori*. *Nature medicine*. 2006;12(9):1030-1038.
276. Beigier-Bompadre M, Moos V, Belogolova E, et al. Modulation of the CD4⁺ T-cell response by *Helicobacter pylori* depends on known virulence factors and bacterial cholesterol and cholesterol α -glucoside content. *Journal of Infectious Diseases*. 2011;204(9):1339-1348.

277. Morey P, Pfannkuch L, Pang E, et al. *Helicobacter pylori* depletes cholesterol in gastric glands to prevent interferon gamma signaling and escape the inflammatory response. *Gastroenterology*. **2018**;154(5):1391-1404. e1399.
278. Wang HJ, Cheng WC, Cheng HH, Lai CH, Wang WC. *Helicobacter pylori* cholesteryl glucosides interfere with host membrane phase and affect type IV secretion system function during infection in AGS cells. *Molecular microbiology*. **2012**;83(1):67-84.
279. Ito Y, Vela JL, Matsumura F, et al. *Helicobacter pylori* cholesteryl α -glucosides contribute to its pathogenicity and immune response by natural killer T cells. *PloS one*. **2013**;8(12):e78191.
280. Kawakubo M, Horiuchi K, Matsumoto T, et al. Cholesterol- α -glucosyltransferase gene is present in most *Helicobacter* species including gastric non-*Helicobacter pylori* helicobacters obtained from Japanese patients. *Helicobacter*. **2018**;23(1):e12449.
281. Lee H, Kobayashi M, Wang P, Nakayama J, Seeberger PH, Fukuda M. Expression cloning of cholesterol alpha-glucosyltransferase, a unique enzyme that can be inhibited by natural antibiotic gastric mucin O-glycans, from *Helicobacter pylori*. *Biochem Biophys Res Commun*. Nov 3 **2006**;349(4):1235-1241.
282. Lai CH, Huang JC, Cheng HH, et al. *Helicobacter pylori* cholesterol glucosylation modulates autophagy for increasing intracellular survival in macrophages. *Cellular Microbiology*. **2018**;20(12):e12947.
283. Du S-Y, Wang H-J, Cheng H-H, Chen S-D, Wang LH-C, Wang W-C. Cholesterol glucosylation by *Helicobacter pylori* delays internalization and arrests phagosome maturation in macrophages. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. **2016**;49(5):636-645.
284. Qaria MA, Kumar N, Hussain A, et al. Roles of cholesteryl- α -glucoside transferase and cholesteryl glucosides in maintenance of *Helicobacter pylori* morphology, cell wall integrity, and resistance to antibiotics. *MBio*. **2018**;9(6):e01523-01518.
285. Ling SSM, Khoo LHB, Hwang L-A, Yeoh KG, Ho B. Instrumental role of *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase in VacA-dependent vacuolation in gastric epithelial cells. *PloS one*. **2015**;10(6):e0131460.
286. Ricci V, Giannouli M, Romano M, Zarrilli R. *Helicobacter pylori* gamma-glutamyl transpeptidase and its pathogenic role. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(3):630.
287. Flahou B, Haesebrouck F, Chiers K, et al. Gastric epithelial cell death caused by *Helicobacter suis* and *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase is mainly glutathione degradation-dependent. *Cellular microbiology*. **2011**;13(12):1933-1955.
288. Busiello I, Acquaviva R, Di Popolo A, et al. *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase upregulates COX-2 and EGF-related peptide expression in human gastric cells. *Cellular microbiology*. **2004**;6(3):255-267.
289. Shibayama K, Wachino Ji, Arakawa Y, Saidijam M, Rutherford NG, Henderson PJ. Metabolism of glutamine and glutathione via γ -glutamyltranspeptidase and glutamate transport in *Helicobacter pylori*: possible significance in the pathophysiology of the organism. *Molecular microbiology*. **2007**;64(2):396-406.
290. Kim K-M, Lee S-G, Park M-G, et al. γ -Glutamyltranspeptidase of *Helicobacter pylori* induces mitochondria-mediated apoptosis in AGS cells. *Biochemical and biophysical research communications*. **2007**;355(2):562-567.

291. Park E-H, Kim J-M, Kim K-M, et al. *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase-induced Ca^{2+} release via PLC-IP₃ receptors in AGS cells. *Canadian journal of microbiology*. **2014**;60(12):865-868.
292. Schmees C, Prinz C, Treptau T, et al. Inhibition of T-cell proliferation by *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase. *Gastroenterology*. **2007**;132(5):1820-1833.
293. Kim K-M, Lee S-G, Kim J-M, et al. *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase induces cell cycle arrest at the G1-S phase transition. *The Journal of Microbiology*. **2010**;48(3):372-377.
294. Boonyanugomol W, Chomvarin C, Song J-Y, et al. Effects of *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase on apoptosis and inflammation in human biliary cells. *Digestive diseases and sciences*. **2012**;57(10):2615-2624.
295. Oertli M, Noben M, Engler DB, et al. *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase and vacuolating cytotoxin promote gastric persistence and immune tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2013**;110(8):3047-3052.
296. Rossi M, Bolz C, Revez J, et al. Evidence for conserved function of γ -glutamyltranspeptidase in *Helicobacter* genus. *PLoS One*. **2012**;7(2):e30543.
297. Kabisch R, Semper RP, Wüstner S, Gerhard M, Mejías-Luque R. *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase induces tolerogenic human dendritic cells by activation of glutamate receptors. *The Journal of Immunology*. **2016**;196(10):4246-4252.
298. Wüstner S, Mejías-Luque R, Koch MF, et al. *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase impairs T-lymphocyte function by compromising metabolic adaption through inhibition of cMyc and IRF4 expression. *Cellular microbiology*. **2015**;17(1):51-61.
299. Chevalier C, Thiberge JM, Ferrero RL, Labigne A. Essential role of *Helicobacter pylori* γ -glutamyltranspeptidase for the colonization of the gastric mucosa of mice. *Molecular microbiology*. **1999**;31(5):1359-1372.
300. McGovern K, Blanchard T, Gutierrez J, Czinn S, Krakowka S, Youngman P. γ -Glutamyltransferase is a *Helicobacter pylori* virulence factor but is not essential for colonization. *Infection and immunity*. **2001**;69(6):4168-4173.
301. Nishioka H, Baesso I, Semenzato G, et al. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* (HP-NAP) activates the MAPK pathway in human neutrophils. *European journal of immunology*. **2003**;33(4):840-849.
302. Yokoyama H, Fujii S. Structures and metal-binding properties of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein with a di-nuclear ferroxidase center. *Biomolecules*. **2014**;4(3):600-615.
303. Yokoyama H, Tsuruta O, Akao N, Fujii S. Crystal structure of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein with a di-nuclear ferroxidase center in a zinc or cadmium-bound form. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2012**;422(4):745-750.
304. Montemurro P, Barbuti G, Dundon WG, et al. *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein stimulates tissue factor and plasminogen activator inhibitor-2 production by human blood mononuclear cells. *The Journal of infectious diseases*. **2001**;183(7):1055-1062.
305. Polenghi A, Bossi F, Fischetti F, et al. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* crosses endothelia to promote neutrophil adhesion in vivo. *The Journal of Immunology*. **2007**;178(3):1312-1320.
306. Fu H-W. *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein: from molecular pathogenesis to clinical applications. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(18):5294.

307. **Cappon A, Babolin C, Segat D, et al.** *Helicobacter pylori*-derived neutrophil-activating protein increases the lifespan of monocytes and neutrophils. *Cellular microbiology*. **2010**;12(6):754-764.
308. **Ramachandran M, Jin C, Yu D, Eriksson F, Essand M.** Vector-encoded *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein promotes maturation of dendritic cells with Th1 polarization and improved migration. *The Journal of Immunology*. **2014**;193(5):2287-2296.
309. **Tonello F, Dundon WG, Satin B, et al.** The *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein is an iron-binding protein with dodecameric structure. *Molecular microbiology*. **1999**;34(2):238-246.
310. **Dundon WG, Polenghi A, Guidice DG, Rappuoli R, Montecucco C.** Neutrophil-activating protein (HP-NAP) versus ferritin (Pfr): comparison of synthesis in *Helicobacter pylori*. *FEMS microbiology letters*. **2001**;199(1):143-149.
311. **Ceci P, Mangiarotti L, Rivetti C, Chiancone E.** The neutrophil-activating Dps protein of *Helicobacter pylori*, HP-NAP, adopts a mechanism different from Escherichia coli Dps to bind and condense DNA. *Nucleic acids research*. **2007**;35(7):2247-2256.
312. **Clyne M, Ocroinin T, Suerbaum S, Josenhans C, Drumm B.** Adherence of isogenic flagellum-negative mutants of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustelae* to human and ferret gastric epithelial cells. *Infection and immunity*. **2000**;68(7):4335-4339.
313. **Shiota S, Nguyen LT, Murakami K, et al.** Association of *helicobacter pylori* dupA with the failure of primary eradication. *Journal of clinical gastroenterology*. **2012**;46(4):297-301.
314. **Hussein N, Tunjel I, Majed H, Yousif S, Aswad S, Assafi M.** Duodenal ulcer promoting gene 1 (dupA1) is associated with A2147G clarithromycin-resistance mutation but not interleukin-8 secretion from gastric mucosa in Iraqi patients. *New Microbes and New Infections*. **2015**;6:5-10.
315. **Moura SB, Costa RF, Anacleto C, Rocha GA, Rocha AM, Queiroz DM.** Single nucleotide polymorphisms of *Helicobacter pylori* dupA that lead to premature stop codons. *Helicobacter*. **2012**;17(3):176-180.
316. **Schmidt TP, Goetz C, Huemer M, Schneider G, Wessler S.** Calcium binding protects E-cadherin from cleavage by *Helicobacter pylori* HtrA. *Gut pathogens*. **2016**;8(1):1-10.
317. **Zarzecka U, Modrak-Wójcik A, Figaj D, et al.** Properties of the HtrA protease from bacterium *Helicobacter pylori* whose activity is indispensable for growth under stress conditions. *Frontiers in microbiology*. **2019**;10:961.
318. **Zarzecka U, Harrer A, Zawilak-Pawlik A, Skorko-Glonek J, Backert S.** Chaperone activity of serine protease HtrA of *Helicobacter pylori* as a crucial survival factor under stress conditions. *Cell Communication and Signaling*. **2019**;17(1):1-18.
319. **Buommino E, Donnarumma G, Manente L, et al.** The *Helicobacter pylori* protein HspB interferes with Nrf2/Keap1 pathway altering the antioxidant response of Ags cells. *Helicobacter*. **2012**;17(6):417-425.
320. **Du RJ, Ho B.** Surface localized heat shock protein 20 (HslV) of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. **2003**;8(4):257-267.
321. **Cun S, Li H, Ge R, Lin MC, Sun H.** A histidine-rich and cysteine-rich metal-binding domain at the C terminus of heat shock protein A from *Helicobacter pylori*: implication for nickel homeostasis and bismuth susceptibility. *Journal of Biological Chemistry*. **2008**;283(22):15142-15151.
322. **Takenaka R, Yokota K, Ayada K, et al.** *Helicobacter pylori* heat-shock protein 60 induces inflammatory responses through the Toll-like receptor-triggered pathway in cultured human gastric epithelial cells. *Microbiology*. **2004**;150(12):3913-3922.

323. Schauer K, Muller C, Carriere M, Labigne A, Cavazza C, De Reuse H. The *Helicobacter pylori* GroES cochaperonin HspA functions as a specialized nickel chaperone and sequestration protein through its unique C-terminal extension. *Journal of bacteriology*. **2010**;192(5):1231-1237.
324. Roncarati D, Danielli A, Spohn G, Delany I, Scarlato V. Transcriptional regulation of stress response and motility functions in *Helicobacter pylori* is mediated by HspR and HrcA. *Journal of bacteriology*. **2007**;189(20):7234-7243.
325. Eamranond PP, Torres J, Munoz O, Pérez-Pérez GI. Age-specific immune response to HspA in *Helicobacter pylori*-positive persons in Mexico. *Clinical and Vaccine Immunology*. **2004**;11(5):983-985.
326. Lin C-S, He P-J, Hsu W-T, et al. *Helicobacter pylori*-derived Heat shock protein 60 enhances angiogenesis via a CXCR2-mediated signaling pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. **2010**;397(2):283-289.
327. Takenaka R, Yokota K, Mizuno M, et al. Serum Antibodies to *Helicobacter pylori* and its Heat-Shock Protein 60 Correlate with the Response of Gastric Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma to Eradication of *H. pylori*. *Helicobacter*. **2004**;9(3):194-200.
328. Ishii E, Yokota K, Sugiyama T, et al. Immunoglobulin G1 antibody response to *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 is closely associated with low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*. **2001**;8(6):1056-1059.
329. Yunoki N, Yokota K, Mizuno M, et al. Antibody to heat shock protein can be used for early serological monitoring of *Helicobacter pylori* eradication treatment. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*. **2000**;7(4):574-577.
330. Wu X, Zeng Z, Chen B, et al. Association between polymorphisms in interleukin-17A and interleukin-17F genes and risks of gastric cancer. *International Journal of Cancer*. **2010**;127(1):86-92.
331. Lobo Gatti L, Zambaldi Tunes M, de Lábio RW, Silva LC, de Arruda Cardoso Smith M, Marques Payão SL. Interleukin-6 polymorphism and *Helicobacter pylori* infection in Brazilian adult patients with chronic gastritis. *Clin Exp Med*. Oct **2005**;5(3):112-116.
332. Zambon C-F, Basso D, Navaglia F, et al. Pro-and anti-inflammatory cytokines gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection: interactions influence outcome. *Cytokine*. **2005**;29(4):141-152.
333. Leja M, Wex T, Malfertheiner P. Markers for gastric cancer premalignant lesions: where do we go? *Digestive diseases*. **2012**;30(3):268-276.
334. Hwang IR, Hsu PI, Peterson LE, et al. Interleukin-6 genetic polymorphisms are not related to *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases. *Helicobacter*. **2003**;8(2):142-148.
335. Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *Journal of Biological Chemistry*. **2000**;275(24):18138-18144.
336. Mejías-Luque R, Peiró S, Vincent A, Van Seuning I, de Bolós C. IL-6 induces MUC4 expression through gp130/STAT3 pathway in gastric cancer cell lines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. **2008**;1783(10):1728-1736.
337. Taguchi A, Ohmiya N, Shirai K, et al. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. **2005**;14(11):2487-2493.

338. Supriatmo D, Siregar G, Pahlevi Adeputra Nasution I, Ramayan O. Interleukin-8 heterozygous polymorphism (-251 T/A and+ 781 C/T) increases the risk of *Helicobacter pylori*-infection gastritis in children: a case control study. *Med Glas (Zenica)*. **2020**;17(2):383-388.
339. Zhang L, Du C, Guo X, et al. Interleukin-8-251A/T polymorphism and *Helicobacter pylori* infection influence risk for the development of gastric cardiac adenocarcinoma in a high-incidence area of China. *Molecular biology reports*. **2010**;37(8):3983-3989.
340. Chang YW, Oh CH, Kim J-W, et al. Combination of *Helicobacter pylori* infection and the interleukin 8–251 T> A polymorphism, but not the mannose-binding lectin 2 codon 54 G> A polymorphism, might be a risk factor of gastric cancer. *BMC cancer*. **2017**;17(1):1-11.
341. Naito M, Eguchi H, Goto Y, et al. Associations of plasma IL-8 levels with *Helicobacter pylori* seropositivity, gastric atrophy, and IL-8 T-251A genotypes. *Epidemiology & Infection*. **2010**;138(4):512-518.
342. Hull J, Thomson A, Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax*. **2000**;55(12):1023-1027.
343. Xue H, Liu J, Lin B, Wang Z, Sun J, Huang G. A meta-analysis of interleukin-8-251 promoter polymorphism associated with gastric cancer risk. *PloS one*. **2012**;7(1):e28083.
344. Kim J, Cho YA, Choi IJ, et al. Effects of interleukin-10 polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection, and smoking on the risk of noncardia gastric cancer. *PloS one*. **2012**;7(1):e29643.
345. Cheng HH, Chang CS, Wang HJ, Wang WC. Interleukin-1 β and-10 polymorphisms influence erosive reflux esophagitis and gastritis in Taiwanese patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*. **2010**;25(8):1443-1451.
346. Barreto ML. IL10 single nucleotide polymorphisms are related to upregulation of constitutive IL-10 production and susceptibility to *Helicobacter pylori* infection.
347. Yuzhalin A. The role of interleukin DNA polymorphisms in gastric cancer. *Human immunology*. **2011**;72(11):1128-1136.
348. Chiurillo MA. Role of gene polymorphisms in gastric cancer and its precursor lesions: current knowledge and perspectives in Latin American countries. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(16):4503.
349. Wroblewski LE, Peek Jr RM, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical microbiology reviews*. **2010**;23(4):713-739.
350. Pasha HF, Tantawy EA, Radwan MI, Hagrass HA, Al-Monem A, AL-Karamany AS. Influence of Cytokine Gene Polymorphisms on the Risk of Gastric Disorders in *H. pylori* Infected Patients. *Afro-Egyptian Journal of Infectious and Endemic Diseases*. **2020**;10(4):397-406.
351. Shibata T, Tahara T, Hirata I, Arisawa T. Genetic polymorphism of interleukin-17A and-17F genes in gastric carcinogenesis. *Human immunology*. **2009**;70(7):547-551.
352. Gubina M, Solovieva I, Babenko V, Sokolov A, Gubina EY. Polymorphism of the Interleukin Genes IL-17A G197A and IL-17F A7488G in Patients with Gastric Cancer in the West Siberian Region. *Russian Journal of Genetics*. **2022**;58(7):823-828.
353. Raffei A, Hosseini V, Janbabai G, et al. Polymorphism in the interleukin-17A promoter contributes to gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. **2013**;19(34):5693.
354. Hadipourfard M, Naeimi S. Incidence and association of genetic variations of IL-19 gene with *H. pylori* infection in the South Iranian population. *Gene Reports*. **2020**;19:100599.

355. Crabtree JE, Kersulyte D, Li SD, Lindley I, Berg DE. Modulation of *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 synthesis in gastric epithelial cells mediated by cag PAI encoded VirD4 homologue. *Journal of clinical pathology*. **1999**;52(9):653-657.
356. Backert S, Haas R, Gerhard M, Naumann M. The *Helicobacter pylori* type IV secretion system encoded by the cag pathogenicity island: architecture, function, and signaling. *Type IV Secretion in Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria*. **2017**:187-220.
357. Tafreshi M, Guan J, Gorrell RJ, et al. *Helicobacter pylori* type IV secretion system and its adhesin subunit, CagL, mediate potent inflammatory responses in primary human endothelial cells. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. **2018**;8:22.
358. O’Keeffe J, Moran AP. Conventional, regulatory, and unconventional T cells in the immunologic response to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. **2008**;13(1):1-19.
359. Blanchard TG, Nedrud JG, Czinn SJ. Local and systemic antibody responses in humans with *Helicobacter pylori* infection. *Canadian Journal of Gastroenterology*. **1999**;13(7):591-594.
360. Öztekin M, Yılmaz B, Ağagündüz D, Capasso R. Overview of *Helicobacter pylori* Infection: Clinical Features, treatment, and nutritional aspects. *Diseases*. **2021**;9(4):66.
361. Watari J, Chen N, Amenta PS, et al. *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis, clinical syndromes, precancerous lesions, and pathogenesis of gastric cancer development. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. **2014**;20(18):5461.
362. Atherton JC. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. **2006**;1:63-96.
363. Polk DB, Peek RM. *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond. *Nature reviews cancer*. **2010**;10(6):403-414.
364. Tsugane S. Salt, salted food intake, and risk of gastric cancer: epidemiologic evidence. *Cancer science*. **2005**;96(1):1-6.
365. Kavitt RT, Lipowska AM, Anyane-Yeboah A, Gralnek IM. Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease. *The American journal of medicine*. **2019**;132(4):447-456.
366. Yeo S-H, Yang C-H. Peptic ulcer disease associated with *Helicobacter pylori* infection. *The Korean Journal of Gastroenterology*. **2016**;67(6):289-299.
367. Arkkila PE, Seppälä K, Kosunen TU, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* improves the healing rate and reduces the relapse rate of nonbleeding ulcers in patients with bleeding peptic ulcer. *The American journal of gastroenterology*. **2003**;98(10):2149-2156.
368. Katelaris P, Hunt R. World Gastroenterology Organisation.
369. Rupp S, Papaefthymiou A, Chatzimichael E, et al. Diagnostic approach to *Helicobacter pylori*-related gastric oncogenesis. *Annals of gastroenterology*. **2022**;35(4):333.
370. Kamiya S, Taniguchi I, Yamamoto T, et al. Evaluation of rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *European journal of epidemiology*. **1993**;9(4):450-452.
371. Ferwana M, Abdulmajeed I, Alhajiahmed A, et al. Accuracy of urea breath test in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2015**;21(4):1305.

372. Garza-González E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(6):1438.
373. Godbole G, Mégraud F, Bessède E. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. **2020**;25:e12735.
374. Noh C-K, Lee GH, Park JW, et al. Diagnostic accuracy of “sweeping” method compared to conventional sampling in rapid urease test for *Helicobacter pylori* detection in atrophic mucosa. *Scientific reports*. **2020**;10(1):1-10.
375. Dong Y, Guo T, Yang H, Qian J, Li J. Correlations between gastric *Helicobacter pylori* infection and colorectal polyps or cancer. *Zhonghua nei ke za zhi*. **2019**;58(2):139-142.
376. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection-recent developments in diagnosis. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2014**;20(28):9299.
377. Tonkic A, Vukovic J, Vrebalov Cindro P, Pesutic Pisac V, Tonkic M. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Wiener klinische Wochenschrift*. **2018**;130(17):530-534.
378. Smith SB, Snow AN, Perry RL, Qasem SA. *Helicobacter pylori*: to stain or not to stain? *American journal of clinical pathology*. **2012**;137(5):733-738.
379. Moayyedi PM, Lacy BE, Andrews CN, Enns RA, Howden CW, Vakil N. ACG and CAG clinical guideline: management of dyspepsia. *Official journal of the American College of Gastroenterology|ACG*. **2017**;112(7):988-1013.
380. Kelly SM, Pitcher MC, Farmery SM, Gibson GR. Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology*. **1994**;107(6):1671-1674.
381. Thomas J, Gibson G, Darboe M, Weaver L, Dale A. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *The Lancet*. **1992**;340(8829):1194-1195.
382. Talebi Bezmin Abadi A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using invasive and noninvasive approaches. *Journal of pathogens*. **2018**;2018.
383. Yousfi MM, Reddy R, Osato MS, Graham DY. Culture of *Helicobacter pylori*: effect of preimmersion of biopsy forceps in formalin. *Helicobacter*. **1996**;1(1):62-64.
384. Han S, Flamm R, Hachem C, et al. Transport and storage of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsies and clinical isolates. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **1995**;14(4):349-352.
385. Veenendaal R, Lichtendahl-Bernards A, Pena A, Endtz HP, Van Boven C, Lamers C. Effect of transport medium and transportation time on culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens. *Journal of clinical pathology*. **1993**;46(6):561-563.
386. Hachem C, Clarridge J, Evans D, Graham D. Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *Journal of clinical pathology*. **1995**;48(8):714-716.
387. Logan R. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. **1998**;43(Suppl 1):S47.
388. Makristathis A, Hirschl AM, Mégraud F, Bessède E. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. **2019**;24:e12641.
389. Gatta L, Vakil N, Ricci C, et al. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on 13C urea breath tests and stool test for *Helicobacter pylori* infection. Vol 99: LWW; **2004**: 823-829.

390. Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB. Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Annals of internal medicine*. **1998**;129(7):547-550.
391. Alzoubi H, Al-Mnayyis Aa, Al Rfoa I, et al. The use of 13C-urea breath test for non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in comparison to endoscopy and stool antigen test. *Diagnostics*. **2020**;10(7):448.
392. Tseng C-A, Wu J-Y, Pan Y-S, et al. Comparison of 13C-urea breath test values in gastric cancer, peptic ulcer and gastritis. *Hepato-gastroenterology*. **2005**;52(65):1636-1640.
393. Chen X, Haruma K, Kamada T, et al. A low 13C-urea breath test value is associated with increased risk of gastric cancer. *Journal of gastroenterology*. **2001**;36(9):601-605.
394. Chung AYT, Chow PK, Yu WK, et al. Prevalence of *Helicobacter Pylori* in gastric cancer in a South-east Asian Population by 14C-Urea breath test. *ANZ Journal of Surgery*. **2001**;71(10):574-576.
395. Siavoshi F, Saniee P, Khalili-Samani S, et al. Evaluation of methods for *H. pylori* detection in PPI consumption using culture, rapid urease test and smear examination. *Annals of Translational Medicine*. **2015**;3(1).
396. Manes G, Balzano A, Iaquinto G, et al. Accuracy of the stool antigen test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment and in patients on omeprazole therapy. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. **2001**;15(1):73-79.
397. Opekun AR, Zierold C, Rode A, et al. Clinical performance of the automated LIAISON® meridian *H. pylori* SA stool antigen test. *BioMed Research International*. **2020**;2020.
398. Chen L, Li X, Zou T, et al. Ultrasensitive detection of *H. pylori* in human feces based on immunomagnetic bead capture and fluorescent quantum dots. *Analyst*. **2019**;144(13):4086-4092.
399. Areia M, Carvalho R, Cadime AT, Rocha Gonçalves F, Dinis-Ribeiro M. Screening for gastric cancer and surveillance of premalignant lesions: a systematic review of cost-effectiveness studies. *Helicobacter*. **2013**;18(5):325-337.
400. Fock KM, Katelaris P, Sugano K, et al. Second Asia-Pacific consensus guidelines for *helicobacter pylori* infection. *Journal of gastroenterology and hepatology*. **2009**;24(10):1587-1600.
401. Schulz TR, McBryde ES, Leder K, Biggs B-A. Using stool antigen to screen for *Helicobacter pylori* in immigrants and refugees from high prevalence countries is relatively cost effective in reducing the burden of gastric cancer and peptic ulceration. *PloS one*. **2014**;9(9):e108610.
402. Yan J, Yamaguchi T, Odaka T, et al. Stool antigen test is a reliable method to detect *Helicobacter pylori* in the gastric remnant after distal gastrectomy for gastric cancer. *Journal of clinical gastroenterology*. **2010**;44(1):73-74.
403. Talarico S, Leverich CK, Wei B, et al. Increased *H. pylori* stool shedding and EPIYA-D cagA alleles are associated with gastric cancer in an East Asian hospital. *Plos one*. **2018**;13(9):e0202925.
404. Kountouras J, Kapetanakis N, Polyzos SA, et al. Active *Helicobacter pylori* infection is a risk factor for colorectal mucosa: early and advanced colonic neoplasm sequence. *Gut and Liver*. **2017**;11(5):733.
405. Formichella L, Romberg L, Bolz C, et al. A novel line immunoassay based on recombinant virulence factors enables highly specific and sensitive serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*. **2013**;20(11):1703-1710.

406. Cutler AF, Prasad VM. Long-term follow-up of *Helicobacter pylori* serology after successful eradication. *American Journal of Gastroenterology (Springer Nature)*. **1996**;91(1).
407. Bergey B, Marchildon P, Peacock J, Megraud F. What is the role of serology in assessing *Helicobacter pylori* eradication? *Alimentary pharmacology & therapeutics*. **2003**;18(6):635-639.
408. Hou J, Wang X, Zhang M, Wang M, Gao P, Jiang Y. Circulating CD14+ CD163+ CD209+ M2-like monocytes are associated with the severity of infection in *Helicobacter pylori*-positive patients. *Molecular immunology*. **2019**;108:13-22.
409. Khalilpour A, Osman S, Yunus MH, Santhanam A, Vellasamy N, Noordin R. *Helicobacter pylori* recombinant UreG protein: cloning, expression, and assessment of its seroreactivity. *BMC research notes*. **2014**;7(1):1-9.
410. Kudo T, Kakizaki S, Sohara N, et al. Analysis of ABC (D) stratification for screening patients with gastric cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. **2011**;17(43):4793.
411. Toyoshima O, Nishizawa T, Sakitani K, et al. Serum anti-*Helicobacter pylori* antibody titer and its association with gastric nodularity, atrophy, and age: A cross-sectional study. *World Journal of Gastroenterology*. **2018**;24(35):4061.
412. Safavi M, Sabourian R, Foroumadi A. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: Current and future insights. *World journal of clinical cases*. **2016**;4(1):5.
413. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, et al. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht Consensus Report. *European journal of gastroenterology & hepatology*. **1997**;9(1):1-2.
414. Wani FA, Bashir G, Khan MA, Zargar SA, Rasool Z, Qadri Q. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a mutational analysis from a tertiary care hospital in Kashmir, India. *Indian journal of medical microbiology*. **2018**;36(2):265-272.
415. Ierardi E, Giorgio F, Iannone A, et al. Noninvasive molecular analysis of *Helicobacter pylori*: Is it time for tailored first-line therapy? *World journal of gastroenterology*. **2017**;23(14):2453.
416. Ierardi E, Giorgio F, Losurdo G, Di Leo A, Principi M. How antibiotic resistances could change *Helicobacter pylori* treatment: A matter of geography? *World Journal of Gastroenterology: WJG*. **2013**;19(45):8168.
417. Liu D-S, Wang Y-H, Zeng Z-R, et al. Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Chinese patients: a multiregion prospective 7-year study. *Clinical microbiology and infection*. **2018**;24(7):780. e785-780. e788.
418. Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, et al. the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. **2016**;43(4):514-533.
419. Bluemel B, Goelz H, Goldmann B, et al. Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Germany, 2015 to 2018. *Clinical Microbiology and Infection*. **2020**;26(2):235-239.
420. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut*. **2017**;66(1):6-30.
421. Mascellino MT, Oliva A, Miele MC, De Angelis M, Bruno G, Severi C. Secondary antibiotic resistance, correlation between genotypic and phenotypic methods and treatment in *Helicobacter pylori* infected patients: A retrospective study. *Antibiotics*. **2020**;9(9):549.

422. Zeng M, Mao X-H, Li J-X, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. **2015**;386(10002):1457-1464.
423. Wang B, Pan X, Wang H, et al. Immunological response of recombinant *H. pylori* multi-epitope vaccine with different vaccination strategies. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. **2014**;7(10):6559.
424. Milani M, Sharifi Y, Rahmati-Yamchi M, Somi MH, Akbarzadeh A. Immunology and vaccines and nanovaccines for *Helicobacter pylori* infection. *Expert Review of Vaccines*. **2015**;14(6):833-840.
425. Ma J, Wu D, Hu X, Li J, Cao M, Dong W. Associations between cytokine gene polymorphisms and susceptibility to *Helicobacter pylori* infection and *Helicobacter pylori* related gastric cancer, peptic ulcer disease: A meta-analysis. *PloS one*. **2017**;12(4):e0176463.
426. Moghimi M, Dastgheib SA, Heiranizadeh N, Zare M, Sheikhpour E, Neamatzadeh H. Association of IL-8-251T> A (rs4073) polymorphism with susceptibility to gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on 33 case-control studies. *Arquivos de gastroenterologia*. **2020**;57:91-99.

ÖZGEÇMİŞ

