

Mide epitel hücre proliferasyonu ile *Helicobacter pylori*'nin ilişkisi

The association of *Helicobacter pylori* with gastric epithelial cell proliferation

Dr. Yusuf YAZGAN¹, Dr. Levent DEMİRTÜRK¹, Dr. Ahmet Kemal GÜRBÜZ¹, Dr. Şükrü YILDIRIM²,
Ramazan ÖZTÜRK¹, Mesut BAŞAK³

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji Servisi¹, Patoloji Servisi² ve İç Hastalıkları Servisi³, İstanbul

ÖZET: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) enfeksiyonunun mide kanserinin en erken histolojik bulgularından biri kabul edilen epitel hücre proliferasyonu (EHP)'na da neden olduğu rapor edilmekte ve *H. pylori* eradikasyonu ile mide EHP'nda azalma gözleendiği bildirilmektedir.

Bu çalışmada *H.pylori* pozitif midelerde EHP'nun oranını belirlemek ve eradikasyon tedavisi sonrasında EHP oranında gözlenen değişiklikleri araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmaya dispeptik yakınmaları bulunan toplam 64 hasta dahil edilmiştir. Hastaların 44'ü *H.pylori* pozitif, 20'si ise *H.pylori* negatif grubu oluşturmuşlardır. Histopatolojik çalışmalar antrumdan alınan biyopsiler üzerinde yapılmıştır. EHP'nu göstermek için immünohistokimyasal bir yöntem olan proliferating cell nuclear antigen labeling index (PCNA LI) kullanılmıştır. *H.pylori* pozitif olgularda PCNA LI oranı % 26.04 iken *H.pylori* negatif hastalarda % 19.81 saptanmıştır ($p<0.05$). *H.pylori* yoğunluğu ile PCNA LI arasında bir ilişki bulunmamıştır. Omeprazol ve amoksisilin'den iki haftalık tedavi ile eradikasyon oranı % 54.25 tespit edilmiştir. *H.pylori* eradikasyonunun sağlandığı olgularda PCNA LI oranlarında istatistiksel olarak anlamlı olan azalmalar gözlenmiştir.

Bu sonuçlar, *H.pylori* enfeksiyonu olan hastalarda, EHP yüksek ise, eradikasyon tedavisinin faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Böylece EHP'yi azaltmakla mide kanseri gelişiminin önüne geçilebilir. *H.pylori* pozitif mide mukozasında epitel hücrelerinin proliferatif cevabının hangi faktörlerin etkisi altında hangi neoplastik yöne doğru progresyon göstereceği açıklığa kavuşturulmamış sorunlardan biridir. Bu konuda geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: *Helicobacter pylori*, mide epitel hücre proliferasyonu

Mide foveolarında gözlenen hücre proliferasyonu epitel tabakasının yenilenmesini sağlayan fizyolojik bir olaydır. Bu mekanizmanın bozulması ile kronik mide hastalıkları ve zamana bağlı olarak mide kanseri gelişebilmektedir (1). *H. pylori* bu mekanizmayı bozan faktörlerden biridir. Mide kanserinde gözlenen en erken değişikliklerden biri epitel hücre proliferasyonu (EHP)'nda

SUMMARY: *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) causes gastric epithelial cell proliferation (ECP) which is known to be one of the earlier histological patterns of gastric carcinoma. Following *H.pylori* eradication therapy, a decrease in gastric ECP rate has been demonstrated.

The objectives of this study were to determine the rate of ECP in *H.pylori* positive gastric mucosa, and to investigate the status of gastric epithelial proliferation following *H.pylori* eradication therapy.

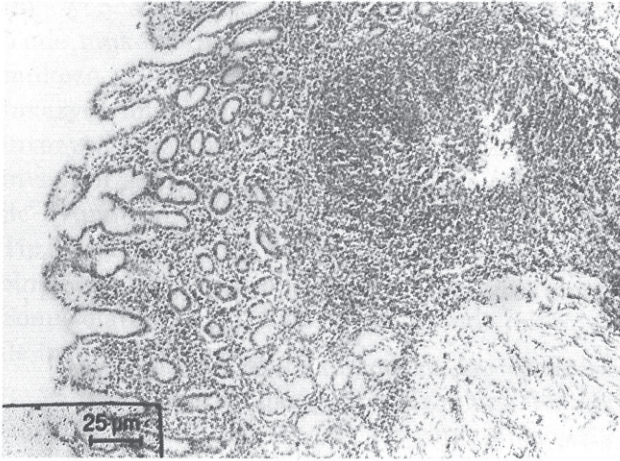
Sixty four patients with dyspeptic complaints were included in the study: 44 patients were *H.pylori* positive and 20 patients *H.pylori* negative. Biopsy specimens were taken from the antrum and evaluated histopathologically. Proliferating cell nuclear antigen labeling index (PCNA LI), an immunohistopathological procedure, was used to show ECP rate. While the rate of PCNA LI in *H.pylori* positive patients was 26.04%, it was 19.81% in *H.pylori* negative patients. No correlation was found between the density of *H.pylori* and the rate of PCNA LI. The *H.pylori* eradication rate was 54.25% with a two week-combination therapy consisting of omeprazole and amoxycillin and in cases where eradication was achieved, the rate of PCNA LI significantly decreased.

These results suggest that *H.pylori* eradication therapy can be useful if the rate of epithelial proliferation is increased in patients with *H.pylori* infection. Thus gastric cancer can be prevented by declining the rate of ECP. The question of which way the ECP will progress is unclear and further and extensive studies are necessary on this topic.

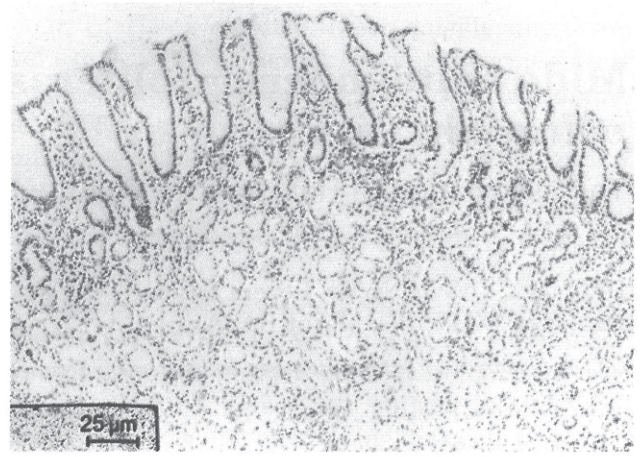
Key words: *Helicobacter pylori*, gastric epithelial cell proliferation

artıştır. *H.pylori* ile enfekte mide mukozasında normal mukozaya göre EHP'nun arttığı, eradikasyon ile proliferasyonun azaldığı bildirilmektedir (1-4). Prolifere olan hücreleri işaretlemek için kullanılan histokimyasal yöntemlerden Proliferating Cell Nuclear Antigen Labeling Index (PCNA LI)'in noninvazif ve güvenilir bir yöntem olduğu ileri sürülmektedir (5).

Bu çalışmada *H.pylori* pozitif midelerde EHP'nun oranını belirlemek ve *H.pylori*'nin eradikasyonundan sonra EHP'nda gözlenen değişiklikleri araştırmak amaçlanmıştır.



Resim 1. Tedavi öncesinde lamina propria glandularının tama yakınında PCNA immün-boyamanın (+) olduğu görülmektedir. (H-E 5X)



Resim 2. Tedavi sonrasında lamina propria glandularının çok azında PCNA immün - boyamanın (+) olduğu görülmektedir. (H-E 5X)

MATERYAL VE METOD

Aralık 1996 - Haziran 1997 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji servisine kronik dispepsi ile müracaat edip özefagogastroduodenoskopileri yapılmış hastalar çalışmaya alınmışlardır.

Epigastrik ağrı, göğüste yanma, bulantı, bazen kusma, şişkinlik, gaz, geçirme gibi semptomların en az üçünün 4 haftadan daha az olmamak üzere devamlılık göstermesi kronik dispepsi lehine yorumlanmıştır.

Gastrointestinal malinitesi olan, midesinde adenomatöz polip tespit edilen, daha önce *H.pylori* eradikasyon tedavisi almış olan, kolelitiazisi olan, endoskopiden 3 ay öncesine kadar olan süre içinde nonsteroidal antiinflatamatuvar ilaç ve antibiyotik almış hastalar çalışma dışı bırakılmışlardır.

Biyopsiler, pilordan 3 cm uzaklıkta antrumun küçük ve büyük kurvaturalarından, mukozal bütünlüğün bozulmamış olduğu bölgelerden toplam 3 tane alınmıştır. Alınan biyopsi örneklerinden ikisi % 10'luk formol ile fikse edilerek histopatolojik olarak değerlendirilmiş, diğeri ise *H.pylori* varlığını test etmek üzere CLOtest için kullanılmıştır. *H.pylori* pozitif tespit edilen hastaların hepsine iki haftalık ikili *H.pylori* eradikasyon tedavisi (Omeprazol, günde bir kez 40 mg; Amoksisilin, sabah ve akşam 1'er gr.) verilmiştir. *H.pylori* negatif tespit edilen hastalar ise kontrol grubu olarak seçilmişlerdir. Eradikasyon tedavisi verilen hastaların özefagogastroduodenoskopileri

tedavinin sonlandığı günden 30 gün sonra tekrarlanmış ve aynı işlemler yinelenmiştir.

Endoskopik incelemeler Olympus GIF K20 ve Fujinon UGI-FP7 fiberendoskoplar kullanılarak yapılmıştır. Endoskoplar ve biyopsi forsepsleri, % 10 süksinik asit ve dimekotsitetrahidrofuran (Gigasept) içersinde 15-30 dakika bekletilerek dezenfekte edilmiştir.

Hızlı üreaz testi için Delta West Ltd. Firmasının CLOtest adlı hazır kiti kullanılmıştır. CLOtestin okunması 20'nci dakikada, 3'ncü saatte ve 24'ncü saatte yapılmıştır.

Biyopsi örnekleri % 10'luk formol ile fikse edildikten sonra parafine gömülmüş ve 5 µm'lik kesitler alınmıştır. Biyopsi örneklerinin hemen hepsinde yüzey epiteli ve muskularis mukoza yer almıştır. *H.pylori* tanısı giemsa boyama ile konmuştur. *H.pylori* yoğunluğu mikroorganizmanın mide epiteli üzerindeki sayısına göre hafif (1-3), orta (4-10) ve şiddetli (10'un üzeri) olarak derecelendirilmiştir. Kronik gastritin değerlendirilmesi Sydney sınıflandırılmasına göre yapılmış ve mononükleer hücre infiltrasyonunun yoğunluğuna göre hafif (0-10 hücre), orta (11-20 hücre) ve şiddetli (21 ve üzeri) olarak derecelendirilmiştir.

Mide epitel hücrelerinin proliferatif aktivitesi PCNA immün-beyama ile belirlenmiştir. Hücre çekirdeğinin tamamının uniform olarak boyanması PCNA pozitif olarak kabul edilmiştir. (Şekil 1. ve Şekil 2) PCNA LI, her biyopsi kesitinde boya tutan epitel hücrelerinin toplam epitel hücre sayısına bölünmesi ile elde edilmiştir.

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri

	H.pylori (-)	H.pylori (+)
Hasta sayısı (n)	20	44
Yaş		
Ortalama	41.75	41.00
Standart sapma	13.68	18.89
Cins		
Erkek	7	14
Kadın	13	30

İstatistik yöntemi olarak Student t testi, Ki-kare testi, nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon testleri uygulanmıştır. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 31'i erkek, 43'ü kadın 64 hasta dahil edildi. *H.pylori* pozitif grubu oluşturan 44 hastanın 14'ü erkek, 30'ü kadın olup yaş ortalamaları 41.00 ± 18.89 idi. Kontrol grubunu oluşturan *H.pylori* negatif 20 hastanın 7'si erkek, 13'ü kadın olup yaş ortalamaları 41.75 ± 13.68 idi. Her iki grupta da yaş ve cinsiyet açısından belirgin bir fark yok idi. (Tablo 1)

H.pylori pozitif hastaların hepsine iki haftalık eradikasyon tedavisi verildi. Tedavinin bitiminden itibaren yaklaşık 4 hafta sonra yapılan kontrol gastroskopilerde kontrollere gelmeyen 9 hastanın *H.pylori* ve histopatolojik kontrolleri yapılamadı. Kalan 35 hastanın 19'unda *H.pylori*'nin eradike edildiği gözlemlendi (% 54.28).

Eradikasyon tedavisi öncesindeki *H.pylori* pozitif 44 hasta ve *H.pylori* negatif 20 hastanın PCNA

Tablo 3. *H.pylori* (+) olgularda tedavi öncesi PCNA LI oranları (*H.pylori* şiddetine göre)

<i>H.pylori</i>	n	PCNA LI ort (%)	SS	p
<i>H.pylori</i> (-)	19	19.81	19.49	
<i>H.pylori</i> (hafif)	13	30.52	23.16	>0.05
<i>H.pylori</i> (orta)	21	22.94	17.60	>0.05
<i>H.pylori</i> (şiddetli)	10	24.65	21.02	>0.05

SS: standart sapma

Tablo 2. *H.pylori* (-) ve *H.pylori* (+) olgularda tedavi öncesi PCNA LI'lerin karşılaştırılması

<i>H.pylori</i>	n	PCNA LI ortalaması (%)	SS
<i>H.pylori</i> (-)	20	19.81	19.49
<i>H.pylori</i> (+)	44	26.04	22.63
			P>0.05

SS: standart sapma

LI'leri karşılaştırıldığında *H.pylori* pozitif grupta PCNA LI % 26.04 ± 22.63 iken *H.pylori* negatif grupta % 19.81 ± 19.49 bulundu. *H.pylori* pozitif hastalarda negatif olanlara göre PCNA LI oranında bir artma gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değil idi ($p>0.05$) (Tablo 2)

Eradikasyon tedavisi öncesindeki *H.pylori* pozitif hastalar ile *H.pylori* negatif hastaların PCNA LI'leri *H.pylori* enfeksiyonu şiddetine göre karşılaştırıldığında, *H.pylori* enfeksiyonu hafif olan grupta PCNA LI % 30.52 ± 23.16 , orta olan grupta % 22.94 ± 17.60 , şiddetli olan grupta ise % 24.65 ± 21.02 iken *H.pylori* negatif grupta % 19.81 ± 19.49 idi. Hangi derecede olursa olsun *H.pylori* pozitif hastalarda negatif olanlara göre PCNA LI oranında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, bir artma gözlenirken, enfeksiyonun derecesi gözönüne alındığında PCNA LI oranındaki artışın enfeksiyonun şiddeti ile bir ilişkisi olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$) (Tablo 3).

H.pylori eradikasyon tedavisinden sonra PCNA LI oranlarındaki değişiklikler 9 hasta kontrollere gelmediğinden 35 hastada değerlendirilebildi. Tedavi öncesi % 26.04 ± 22.63 olan PCNA LI orta-

Tablo 4. Tedavi öncesinde *H.pylori* (+) olan hastalarda HPeradikasyon tedavisi sonrasında *H.pylori*(+) kalan ve *H.pylori* (-) olan hastaların PCNA LI durumu

<i>H.pylori</i>	n	PCNA LI ort (%)	SS	P
Tedavi öncesi (<i>H.pylori</i> (+))	35	26.04	22.63	
Tedavi sonrası (<i>H.pylori</i> (-))	19	10.89	8.25	<0.01
(<i>H.pylori</i> (+))	16	24.23	20.45	>0.05

SS: standart sapma

Tablo 5. *H.pylori* (-) ve (+) hastalarda kronik gastritin derecelendirilmesi ile lenf follikül ve PCNA arasındaki ilişki

Mononükleer lökosit infiltrasyonu	H.pylori (+)		H.pylori (-)	
	n	PCNA LI (%)	n	PCNA LI (%)
	MN (hafif)	6	5.00	11
MN (orta)	21	22.95	7	18.40
MN (şiddetli)	17	28.29	2	20.35

MN: Mononükleer lökosit infiltrasyonu

laması, tedavi sonrasında *H.pylori* 'si eradike olan (n=19) grupta % 10.89 ±8.25'a indi (p<0.01). Eradike olmayan grupta ise (n=16) bu oran % 24.23 ±20.45'te kaldı (p>0.05) (Tablo 4).

H.pylori pozitif ve negatif hastaların biyopsi örneklerinde mononükleer lökosit infiltrasyon oranlarına göre kronik gastrit derecelendirildi. *H.pylori* pozitif grupta 44 hastanın 6'sında (% 13) hafif, 21'inde (% 48) orta, 17'sinde (% 39) şiddetli gastrit mevcut idi. Her iki grupta kronik gastritin derecesine göre PCNA LI değerleri hesaplandı. *H.pylori* pozitif grupta PCNA LI değerleri hafif, orta ve şiddetli gastritte sırası ile % 5.00; % 22.95 ve % 28.29 idi. Gastritin şiddeti arttıkça PCNA LI değerlerindeki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05). *H.pylori* negatif grupta ise PCNA LI değerleri hafif, orta ve şiddetli gastritte sırası ile % 17.17, % 18.40 ve % 20.35 idi. Gastritin şiddeti arttıkça PCNA LI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bir artış mevcut idi (Tablo 5).

H.pylori negatif ve pozitif hastaların PCNA LI durumu yaş gruplarına göre incelendiğinde ise her iki grupta da 30 yaşın altında ve 50 yaşın üstündeki hastaların PCNA LI'leri 30-50 yaşlar arasındakilere göre biraz daha yüksek bulundu, ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değil idi. (Tablo 6)

TARTIŞMA

Mide foveolalarındaki hücre proliferasyonu, epitel tabakasının yenilenip bariyer fonksiyonunu yerine getirmesini sağlayan fizyolojik bir olaydır. Midenin bazı kronik hastalıklarında ve neoplastik değişikliklerine giden olaylarda bu mekanizma bozulmuştur (1). Uzun süren *H.pylori* pozitif kronik gastrit olgularında diffüz ve intestinal tip mide kanseri gelişebileceği bildirilmektedir (1).

Tablo 6. *H.pylori* (+) ve (-) hastalarda yaş grupları ile PCNA LI arasındaki ilişki

Yaş grupları	H.pylori (+)		H.pylori (-)	
	n	PCNA LI (%)	n	PCNA LI (%)
<30	17	26.00	4	22.50
30-50	14	23.44	8	19.40
>50	13	30.73	8	26.88

H.pylori enfeksiyonlu hastalarda mide kanser riskinin 6 kat arttığı rapor edilmektedir (6). Mide kanserindeki en erken mukozal değişikliklerden biri de EHP'nda görülen artıştır. *H.pylori* ile enfekte mide mukozasında normal mukozaya göre mide EHP'nun arttığını, *H.pylori*'nin eradike edilmesi ile proliferasyonun azaldığını gösteren yayınlar bildirilmektedir (1-4). Prolifere olan hücreleri işaretlemek için Bromodeoxyuridine, MIB-1 ve Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) gibi histokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan PCNA'nın noninvazif ve güvenilir bir yöntem olduğu ileri sürülmektedir (5). Antrum ve korpustan alınan biyopsilerde EHP'nun *H.pylori* enfeksiyonunun yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu bildirilmektedir (2, 3, 7). Bu nedenle çalışmamızda biyopsiler, *H.pylori* yoğunluğunun en fazla olduğu antrumdan alınmıştır.

Çalışmamızda *H.pylori* pozitif hastalarımızın mide biyopsi örneklerinde bulunan PCNA LI ortalaması (% 26.04 ±22.63) *H.pylori* negatif olan gruba göre (% 19.81 ±19.49) istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulunmuştur (Tablo 2). *H.pylori* yoğunluğu ile PCNA LI oranları arasında bir fark bulunmamıştır (Tablo 3). *H.pylori* pozitif hastalarımızın eradikasyon tedavisi ile tedavi öncesi % 26.04 ±22.63 olan PCNA LI'nin, *H.pylori* başarı ile eradike edilen hastalarda % 10.89 ±8.25'e indiği ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. *H.pylori* eradike edilemeyen hastalarda ise PCNA LI'nin % 24.23 ±20.45'te kaldığı saptanmıştır (Tablo 4). Panella ve arkadaşları kronik dispepsili 40 hasta ile yaptıkları çalışmada, *H.pylori* negatif olup normal endoskopik ve histolojik bulguları olan hastalarda PCNA LI ortalamasını % 18, *H.pylori* pozitif kronik aktif gastritli hastalarda % 28-34, *H.pylori* pozitif komplet ve inkomplet intestinal meta-

plazili hastalarda % 38-55 oranlarında saptanmışlardır. Bu çalışmada *H.pylori* eradikasyonunun PCNA LI üzerindeki etkisi araştırılmamıştır (1). Prolifere olan hücreleri göstermek amacı ile immünohistokimyasal yöntem olarak bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılan bir çalışmada, *H.pylori* pozitif hastalarda EHP'nun % 5.0 olmasına karşın, *H.pylori* negatif kontrol grubunda % 3.2 olduğu gözlenmiştir. Eradikasyon tedavisi ile *H.pylori* negatifleşen hastalarda EHP % 5.2'den % 3.2'ye anlamlı olarak azaldığı, *H.pylori* eradike olmayan hastalarda ise bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır (3). Cahill ve arkadaşları *H.pylori* pozitif gastritli hastalarda BrdU LI oranını % 4.98, *H.pylori* negatif normal hastalarda % 3.08, *H.pylori* negatif gastritlilerde % 3.83 tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmada kronik atrofik gastritli, intestinal metaplazili ve mide kanserli olguların *H.pylori* pozitifliği ya da negatifliğinin EHP'nu etkilemediğini gözlemlemişler ve mide kanserinin patogenezinin geç evrelerinde *H.pylori*'nin bir rolü olmadığı, ancak mide karsinogenezini başlatan basamaklardan biri olabileceği sonucuna varmışlardır (8). EHP'nu

göstermek için hücre nükleusundaki Ki67 antijenine karşı gelişen MIB-1 antikörlerinin kullanıldığı morfometrik bir çalışmada, *H.pylori* pozitif ve MALT pozitif folliküler gastritli olgularda, mide kriptlerinde EHP oranının (% 45.6) kontrollere göre (% 15.4) belirgin yüksek olduğu rapor edilmektedir. Çalışmamızdaki ve literatürde bildirilen EHP oranlarındaki farklılıklar seçilen immünohistokimyasal işlem ve kullanılan yöntemden kaynaklanmaktadır. *H.pylori* pozitif gruplarda EHP'nun negatif olan gruplara göre artmış olup, *H.pylori*'nin eradikasyonu ile azalması gözlemi, literatür verileri ve çalışmamızın sonuçları ile aynı doğrultudadır (1-3, 7, 9, 10).

Sonuç olarak, çalışmamızda *H.pylori* enfeksiyonlu olgularda *H.pylori* eradikasyonu ile mide EHP'nun gerilediği saptanmıştır. Mide kanserinde en erken mukozal değişikliklerden birinin EHP olduğu göz önüne alınırsa, *H.pylori* enfeksiyonu pozitif olgularda bu parametrenin araştırılması klinik yarar sağlayabilir. Çünkü *H.pylori* eradikasyon tedavisi ile mide EHP'nun gerilediği gözlenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Panella C, Iirardi E, Palimeno P, et al. Proliferative activity of gastric epithelium in progressive stages of *H.pylori* infection. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1132-8.
2. Cahill RJ, Sant S, Beattie S, et al. *H.pylori* and increased cell proliferation: A risk factor for cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1994; 6: 1123-7.
3. Cahill RJ, Xia H, Kilgallen C, et al. Effect of eradication of *H.pylori* on gastric epithelial cell proliferation. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1627-31.
4. Linch DAF, Mapstone MP, Clarke AMT, et al. Cell proliferation in *H.pylori* associated gastritis and the effect of eradication therapy. *Gut* 1995; 36: 346-50.
5. Linch DAF, Clarke AMT, Jackson P, et al. Comparison of labeling bromodeoxyuridine, MIB-1, and proliferating cell nuclear antigen in gastric mucosal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1994; 47: 122-5.
6. Eurogast Study Group. An international association between *H.pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 1993; 341: 1359-62.
7. Brenes F, Luiz B, Correa P, et al. *H.pylori* causes hyperproliferation of the gastric epithelium: Pre and posteradication indices of proliferating cell nuclear antigen. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1870-5.
8. Cahill RJ, Kilgallen C, Beattie S, et al. Gastric epithelial cell kinetics in the progression from normal mucosa to gastric carcinoma. *Gut* 1996; 38: 177-81.
9. Fan XG, Kelleher D, Fan XJ, et al. *Helicobacter* increases proliferation of gastric epithelial cells. *Gut* 1996; 38: 19-22.
10. Havard TJ, Sarsfield P, Wotherspoon AC, Steer HW. Increased epithelial cell proliferation in *H.pylori* associated follicular gastritis. *J Clin Pathol* 1996; 49: 68-71.