

# İnflamatuvar bağırsak hastalığında kolonda *Helikobakter pilori*'nin immunohistokimyasal yöntemle araştırılması

An investigation of *Helicobacter pylori* infection in patients with inflammatory bowel disease using immunohistochemistry

Özgür BAHADIR<sup>1</sup>, Mesut SEZİKLİ<sup>2</sup>, Fatih GÜZELBULUT<sup>3</sup>, Züleyha AKKAN ÇETİNKAYA<sup>2</sup>, Selvinaz ÖZKARA<sup>4</sup>

Kars Devlet Hastanesi, <sup>1</sup>Gastroenteroloji Kliniği, Kars

Kocaeli Derince Eğitim Araştırma Hastanesi, <sup>2</sup>Gastroenteroloji Kliniği, Kocaeli

Elazığ Eğitim Araştırma Hastanesi, <sup>3</sup>Gastroenteroloji Kliniği, Elazığ

Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, <sup>4</sup>Patoloji Bölümü, İstanbul

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı inflamatuvar barsak hastalığı olan hastaların kolon mukozasının *Helikobakter pilori* ile enfekte olup olmadığını araştırmaktır. **Gereç ve Yöntem:** Endoskopi ünitesinde kolonoskopi yapılan hastaların kayıtları retrospektif olarak incelendi. İnflamatuvar barsak hastalığı olan ve olmayan hastalardan kolonoskopi sırasında terminal ileum, çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon veya rektumdan olmak üzere en az üç bölgeden biyopsi alınmış olanlar gastrik *Helikobakter pilori* enfeksiyonu varlığı açısından incelendi. Histopatolojik inceleme veya C14-üre nefes testi ile gastrik *Helikobakter pilori* enfeksiyonu saptananlar çalışmaya dahil edildi. Kolonoskopide neoplazi veya polip olanlar ve geçirilmiş kolon rezeksiyonu olanlar çalışmaya alınmadı. **Bulgular:** İnflamatuvar barsak hastalığı tanısı olan 60 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu da 60 hastadan oluştu. Her 2 grupta da hiçbir hastada immünhistokimyasal boyama ile kolonik *Helikobakter pilori* enfeksiyonu saptanmadı. **Sonuç:** Immünhistokimyasal boyama ile kolonda *Helikobakter pilori* enfeksiyonu her 2 grupta da saptanamamıştır. Immünhistokimyasal inceleme inflamatuvar barsak hastalığı olan hastalarda polimeraz zincir reaksiyonu kadar sensitif olmayabilir. Kolonik *Helikobakter pilori* enfeksiyonu varlığını daha fazla sayıda hasta grubunda ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanarak araştırarak çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** İnflamatuvar barsak hastalığı, *Helikobakter pilori*

## GİRİŞ

*Helikobakter pilori* (*Hp*) spiral, mikroaerofilik, gram negatif bakteridir. *Hp* enfeksiyonu kronik gastrit, peptik ülser, gastrik lenfoma ve gastrik kanser gibi gastroduodenal hastalıkların patojenezinde önemli rol oynar (1). *Hp* insanlardaki en sık kronik enfeksiyon sebebidir (2). Prevelansı coğrafik bölge, yaş, ırk, etnik grup ve sosyoekonomik duruma göre %40 ile %80 arasında değişmektedir (3).

*Hp* birçok mekanizma ile konak defansının üzerinden gelerek kronik enfeksiyona neden olur. Asidik gastrik mukozada üreaz aktivitesi sayesinde yaşar. Üreaz enzimi üreyi karbondioksit ve amonyaka ayırarak gastrik asidi lokal olarak tamponlar. *Hp*, adhesin-like proteinler ile gastrik mukus tabakasını geçer ve gastrik mukozaya tutunur (4). *Hp* fagozom olgunlaşması-

**Background and Aims:** Background and Aims: The aim of this study was to evaluate whether colonic mucosa is infected with *Helicobacter pylori* in patients with inflammatory bowel disease. **Materials and Methods:** The data of patients who underwent colonoscopy in the endoscopy unit were reviewed retrospectively. Of them, patients with or without inflammatory bowel disease who had at least three colon biopsy specimens including the terminal ileum, ascending colon, transverse colon, descending colon, sigmoid colon, or rectum were reviewed for the presence of gastric *Helicobacter pylori* infection. Patients with gastric *Helicobacter pylori* infection as evidenced by histopathologic analysis or C14-urea breath test were included in the study. Patients with neoplasia or polyp and those with prior colonic resection were excluded from the study. **Results:** Totally, 60 patients with inflammatory bowel disease were included in this study. Sixty patients with normal colonoscopy results were included as the control group. None of the patients in either group had *Helicobacter pylori* infection in colonic biopsy specimens by immunohistochemical staining. **Conclusions:** Colonic *Helicobacter pylori* infection was not determined in either patients with inflammatory bowel disease or healthy controls using immunohistochemical staining. However, immunohistochemical staining might not be as sensitive as polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* in colonic mucosa. There is a need for studies to evaluate the presence of *Helicobacter pylori* infection in colonic mucosa in large patient groups by polymerase chain reaction.

**Key words:** Colonic mucosa, *Helicobacter pylori*, immunohistochemistry

nı engelleyerek makrofajlar içinde yaşayabilir (5). Gastrik epitel hücreye tutunduğunda güçlü bir immün yanıtı neden olur. Bu immün yanıt bakterinin eliminasyonunu sağlayamaz ve kronik inflamasyona neden olur. *Hp* tedavi edilmediği sürece yok olmaz. Antibiyotik kombinasyon tedavisi uygulanmadan spontan eradikasyon mümkün değildir (6).

Son yıllarda *Hp* ve *Helicobacter* suşlarının çeşitli ekstragastrik manifestasyonları olduğu anlaşılmıştır. İskemik kalp hastalığı, karaciğer hastalığı, cilt hastalıkları, kan hastalıkları ve kolorektal karsinom ile *Hp* enfeksiyonu ilişkilendirilmiştir (7).

İnflamatuvar bağırsak hastalığında (İBH), *Hp* patojenezine benzer bir inflamasyon kaskadı vardır. Son zamanlardaki in-

**İletişim:** Mesut SEZİKLİ

Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği,

Ibn-i Sina Bulvarı Derince/ Kocaeli, Türkiye

E-mail: drsezikli@hotmail.com

**Geliş Tarihi:** 03.11.2012 **Kabul Tarihi:** 05.11.2012

celemelerde 16. kromozomdaki IBD1 lokusunda IBH'dan sorumlu bir gen tanımlanmış ve bunun sitoplazmik NOD2 adlı bir proteini kodladığı bulunmuştur. Bu protein makrofajların üzerinde eksprese olmakta ve bakteriyel lipopolisakkaridler için sitozolik bir taşıyıcı reseptör gibi davranmaktadır. Bu protein makrofajlarda eksprese olmakta ve nükleer faktör kappa B (NF-kB) aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu yolla aktive olan mediatörlerin spektrumu interleukin (IL)-1 ve tümör nekrozis faktör (TNF) gibi inflamatuvar sitokinleri içerir ve bu sitokinler sırasıyla hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanırlar. Bu sitokinler Toll-Like Reseptör (TLR) ailesinden olan hücre yüzey reseptörlerine bağlanan lipopolisakkarid gibi mikrobiyal ürünlere de bağlanırlar. Epitele sitokinler ve kemokinlerin üretimi aktive olur. IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF gibi proinflamatuvar sitokinlere bağlı aşırı inflamasyon oluşur. Antijen sunan hücrelerin aktivasyonu CH olanlarda Th1 hücrelerinin farklılaşmasını artırır. Th1 hücrelerin aktivasyonu IL-2, IL-12, IL-18, MIF sitokinlerini üretirken, makrofajlardan IL-1, IL-6, TNF gibi inflamatuvar sitokinlerin salınması artar. Bu farklılaşma ülseratif kolitli hastalarda atıpkı Th2 hücreleri ile olmaktadır. Th2 hücrelerinin aktivasyonu IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 ve TGF salınmasını artırır. Buna bağlı olarak doku hasarını artıran lizozomal enzimlerin salınmasında artış olur.

*Hp* ve IBH patojenezinde NF-kB, Toll-Like Reseptörler ile birçok sitokin ve hücrel immünite yanıtları, mukozada antijen permeabilitesindeki artış benzerdir. Bunun sonucu olarak IBH patojenezinde *Hp*'nin rolü olabileceği düşünülmüştür.

Deneysel çalışmalarda bazı Helikobakter türleriyle IBH'nda ilişki bulunmuştur. Immunolojileri değiştirilmiş fare modellerinde *Helikobakter hepaticus* ile infekte edildiğinde, anormal immun yanıt ile insan IBH'na benzer ağır hastalık tablosu oluşmaktadır (8). Ancak *Hp* ile IBH arasındaki ilişki üzerine az sayıda çalışma vardır.

Kolon mukozasında *Hp* bazı çalışmalarda, PCR ile gösterilmiştir. Çalışmalarda normal ve IBH olanlarda kolonoskopide alınan biyopsi materyallerinde *Hp* ve diğer Helikobakter türleri PCR ile tespit edilmiştir (9,10).

Ancak bazı diğer çalışmalarda örneğin kolon poliplerinde *Hp*, PCR dışında immunohistokimyasal (IHK) yöntem ile de gösterilmiştir (11). Ancak kolon polipleri dışında kolon mukozasında *Hp*'nin IHK yöntem ile gösterilebileceğine dair bilgi yoktur.

Tüm bu çalışmalar ışığında bizde gastrik *Hp* infeksiyonu olan ve olmayan, IBH olan vaka ve normal kolon mukozası olan kontrol grubundaki hastalarda *Hp*'nin kolon mukozasında varlığını IHK metotla araştırdık. Birçok ekstra gastrik patolojide suçlanan *Hp*'nin, gastroduodenum ile anatomik bağlantısı olan kolonda, IBH ile birlikteliğini ve bunun normal kolon mukozası olan kontrol grubu ile karşılaştırmayı ve hasarlı ko-

lon ve terminal ileum mukozasında *Hp*'nin IHK yöntem ile tespit edilip edilemeyeceğini göstermeyi amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Gastroenteroloji ve Patoloji Kliniğinde yapıldı. Gastroenteroloji Endoskopi Laboratuvarında 2005-2010 yılı arası yapılmış kolonoskopi raporları retrospektif olarak tarandı. Kolonoskopide terminal ileum, çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon veya rektum bölgelerinin en az üç bölgeden biyopsi alınmış, IBH olan veya normal kolonoskopili hastalar çalışmaya alındı. Bu hastaların gastrik *Hp* infeksiyonu durumu, yapılmış gastroskopilerinde mideden en az iki biyopside modifiye Giemsa ve Warthin-Stary boyaması veya C14 Üre Nefes Testi (ÜNT) ile belirliydi. Kolonoskopide neoplazi veya polip olanlar ve geçirilmiş kolon rezeksiyonu olanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya toplam 120 hasta alındı. Bu hastaların IBH olan 60 tanesi vaka grubu, normal kolonoskopili 60 tanesi kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Inflamatuvar bağırsak hastalığı aktivitesini belirlemek için Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi ve Trulove-Witts sınıflaması kullanıldı. *Hp* immunohistokimya ile patoloji tarafından yeniden değerlendirildi. Immunohistokimya yöntemi aşağıda anlatıldığı gibi yapıldı:

1. Dondurulan bloklar 2 mikronda kesilip Poly-L-Lysin'li lamlar üzerine alındı.
2. 47 C°'lik etüvde 1 gece bekletildi. Daha sonra lamlar deparafinizasyon amacıyla 3'er adet ksilen içersinde 10'ar dakika bekletildi. Ksilenden sonra %96-%86 ve %70'lik alkoller içersinde 1'er dakika bekletildikten sonra 5 dakika distile suya alındı. Daha sonra %20'lik phosphate buffered saline (PBS)'de 5 dakika bekletildi.
3. Daha sonra düdüklü tencere içersinde antigen retrieval için solüsyon hazırlandı. 1/10 dilüe eden buffer pH:8 ve 1/10 dilüe citrat buffer pH:7. Bu solüsyon içersinde 10 dakika kaynatılıp işlem bittikten sonra 5'er dakika distile su ve PBS'de bekletildi.
4. Lamlar dokuların etrafı pap-pen kalem ile çizilerek hemidy chamber içersine dizildi. %3'lük hydrogen peroxidaz damlatılıp 5 dakika beklendi. Önce distile su sonra PBS ile 5'er dakika yıkandı.
5. Sonra ultra V blockin solüsyonu damlatılıp 5 dakika bekletildikten sonra PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
6. Sonra primary antibodi HPV pan damlatılıp 2 saat bekletildi.
7. PBS'de 5 dakika yıkandı.
8. Link damlatılıp 1 saat bekletildi.

9. PBS'de 5 dakika yıkandı.
10. Streptavidinde 1 saat bekletildi.
11. PBS'de 5 dakika yıkandı.
12. Dap solüsyonu hazırlandı, (950 mik. dap mikrolitre DAP chromogen) dokular üzerine damlatılıp 5 dakika bekledi.
13. 5 dakika PBS ve 5 dakika distile suda yıkandı.
14. 5 dakika mayer hematoxilende bekletilip 5 dakika PBS, 5 dakika distile su ve 5 dakika musluk suyunda yıkayıp aqueous mounting medium ile lamalar kapatılıp mikroskopta bakılmaya hazır hale getirildi.

*Hp* antipodü olarak kullanıma hazır poliklonal, Thermo, Fremont, CA, USA kullanıldı. Lamalar ışık mikroskopunda incelenerek kolon mukozasında *Hp* olup olmadığı araştırıldı. Kontrol olarak *Hp* gastriti olan bir hastanın antral mukozasından alınan biyopsi materyalleri de aynı işlemlere tabi tutularak ışık mikroskopunda incelendi ve *Hp* pozitif olduğu görüldü. Materyaller iki patoloğ tarafından ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Çalışma Helsinki deklarasyonunun 2004 revizyonuna uygun olarak yürütüldü. Yerel etik komiteden çalışmaya başlanmadan önce onay alındı (29.09.2010 tarih ve 2010-09).

### İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken istatistiksel metodlar (Ortalama, Standart sapma) yanı sıra verilerin gruplar arası karşılaştırılmalarında Mann Whitney-U testi ve Student t testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

### BULGULAR

Çalışmamıza toplam 120 hasta alındı. Hastaların 57'si kadın (%47.5), 63'ü erkek (%52.5) ve yaş ortalaması  $42,83 \pm 15,44$  idi.

IBH olan 60 hastanın 31'i Crohn hastası (%52), 29'u ÜK (%48) hastasıydı. Crohn hastalarının hepsinde Crohn hastalığı aktivite indeksi (CHAI) skoru 150'nin üstündeydi. ÜK hastalarının hepsi Truelove-Witts sınıflamasına göre orta ve ağır aktiviteydi. IBH olanların 30'unda gastrik *Hp*, gastrik biyopsi veya C14 ÜNT ile pozitif (Tablo 1), 30'unda ise negatifti (Tablo 2).

Çalışmamıza normal kolonoskopili 60 hasta alındı. Bu hastaların 30'unda gastrik *Hp* gastrik biyopsi veya C14 ÜNT ile pozitif ve 30'unda ise negatifti.

Çalışmamız sonucunda hastaların hiçbirinin kolon mukozasında immunohistokimyasal yöntem ile *Hp* pozitif saptanmadı.

### TARTIŞMA

IBH enterik floraya karşı anormal immunolojik yanıt veya spesifik patojene karşı normal immunolojik yanıt sonucu oluşur. Literatürde IBH patojenezinde sorumlu olabilecek bakteriler olarak özellikle Mikobakterium, Helikobakter ve *Escherichia coli* suçlanmaktadır. Ancak bugüne kadar kesin bir spesifik patojen bulunamamıştır (12).

IBH ve *Hp* infeksiyonunda benzer sitokinler ve immün hücreler kronik inflamasyonu oluşturmaktadır. Bu nedenle kendi vaka grubumuzda *Hp* infeksiyonunun mevcut olup olmadığını göstermeyi amaçladık.

Son yıllarda *Hp* ve Helikobakter suşlarının çeşitli ekstragastrik manifestasyonları olduğu anlaşılmıştır. İskemik kalp hastalığı, karaciğer hastalığı, cilt hastalıkları, kan hastalıkları ve diğer sistem hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir. Ancak bu çalışmaların çoğunda *Hp*'nin varlığı serolojik olarak çalışılmıştır ve antijenik benzerlik ile kronik inflamasyon suçlanmıştır. *Hp*'nin direk olarak gösterilebildiği ekstra gastroduodenal yerler farenks, karaciğer ve kolon gibi sınırlıdır ve bu yerlerin hepsinin gastroduodenum ile anatomik bağlantısı vardır (7).

*Hp*'nin ilişkili olduğu düşünülen bir diğer ekstragastrik patoloji kolon polipleridir. Kolon poliplerinde *Hp* varlığı İHK yöntem ile gösterilmiştir (7).

İHK *Hp* tanısında kullanılan histopatolojik inceleme yöntemlerinden birisidir. İHK boyamada *Hp*'ye karşı monoklonal veya poliklonal floresan antikorlar kullanılır. Oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir, fakat maliyeti yüksektir. İHK boyama histolojik muayenede en duyarlı ve özgül metotlar olup altın standarttır (13).

Jones ve arkadaşları yaptıkları çalışmada normal kolon ve kolorektal neoplazide (KRN) *Hp*'yi, arşiv parafin blok kolon dokularında İHK metotla araştırılmışlardır. Normal kolon mukozalı 58 hasta, adenoma olan 59 hasta ve adenokarsinomu olan 60 hasta çalışmaya alınmış. Adenom olan 60 hastanın 19'u tubuler, 20'si tubulovillöz ve 20'si villoz adenoma hastasıymış. Adenokarsinom hastalarının 10'unda (%16.9), villöz adenomların 1'inde (%5), tubulovillöz adenomların 4'ünde (%20), tubuler adenomların 4'ünde (%21) ve kontrol grubunda 1 kişide (%1.7) *Hp* pozitif saptanmış. Sonuç olarak kolorektal neoplazm ile *Hp* prevalansı arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir (14).

Benzer bir çalışmada Soylu ve arkadaşları KRN'de *Hp* varlığı İHK metot ile değerlendirilmişlerdir. Çalışmaya 51 hasta alınmış (19 kadın, 32 erkek). Kolonoskopide polip saptanıp polipektomi yapılan hastalar ve alınan polip materyali değerlendirilmiş. IBH'de psödopolipler, inflamatuvar polipler, juvenile poliposis sendromu, familial adenomatöz polipozis ve kolon karsinomlar çalışmaya alınmamış. Bütün kolon lokalizasyonundaki polipler çalışmaya alınmış. Displazi tipi ve derece-

Tablo 1. *Hp* pozitif İBH hastaları

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	ÜNT*	Mide Biyopsi	Tanı	Aktivite**
1	30	E	Yok	Pozitif	Crohn	249
2	48	E	Yok	Pozitif	Crohn	157
3	45	K	Yok	Pozitif	Crohn	248
4	55	E	Yok	Pozitif	Crohn	184
5	31	E	Yok	Pozitif	Crohn	197
6	33	K	Yok	Pozitif	Crohn	153
7	36	K	Yok	Pozitif	Crohn	227
8	25	K	Yok	Pozitif	Crohn	162
9	44	K	Yok	Pozitif	Crohn	199
10	25	K	Yok	Pozitif	Crohn	422
11	42	E	Yok	Pozitif	Crohn	205
12	53	E	Yok	Pozitif	Crohn	188
13	30	K	Yok	Pozitif	Crohn	235
14	20	E	Pozitif	Yok	Crohn	327
15	31	K	Yok	Pozitif	Crohn	302
16	32	E	Yok	Pozitif	Crohn	180
17	19	K	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Ağır
18	48	E	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Orta
19	30	K	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta
20	43	E	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta
21	26	K	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Orta
22	25	E	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Ağır
23	22	K	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Ağır
24	36	K	Pozitif	Pozitif	Ülseratif Kolit	Orta
25	51	E	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Ağır
26	28	E	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta
27	35	K	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Ağır
28	27	E	Pozitif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta
29	76	E	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Orta
30	51	E	Yok	Pozitif	Ülseratif Kolit	Ağır

\*ÜNT: Üre Nefes Testi, \*\*CHAI: Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi veya ÜK Trulove ve Witts Sınıflaması.

si parafin bloklarda retrospektif olarak Hematoksilen ve Eosin (H&E) boyamayla değerlendirilmiş. H&E boyama sonrası örneklerin İHK analizi yapılmış. *Hp* pozitif örnekler İHK boyama paternine göre sınıflandırılmış. Hastaların 11'inin (%21.6) poliplerinde *Hp* pozitif saptanmış. Pozitif buluna 11 vakanın 10'unda (%90.9) eşit diffüz mukozal boyama paterni görülmüş. Ancak polip türleri arasında sonuçta istatistiksel anlamlı bir fark bulamamışlar (11). Kolon poliplerinde *Hp* pozitifliği İHK yöntem ile %5 ile %21.6 arasında bulunmuştur.

Deneysel hayvan çalışmalarında bazı Helikobakter türleriyle inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) arasında ilişki bulunmuştur.

Cahill ve arkadaşları Helikobakter suşları ile İBH arasındaki ilişkiyi hayvan deneyinde araştırmışlardır. Çalışmada immünojenleri değiştirilmiş fare modelleri kullanılmışlar. Homozigot farelerde CD4+ T hücre adaptive transfer ile yüksek seviyede CD45RB ekspresyon eden ağır kombine immün yetmezlik

oluşturulmuş. Bu farelerde germ free durumda İBH gelişmemiş. Bu fareler *Helikobakter hepaticus* ile infekte edildiğinde, anormal immün yanıt ile İBH gelişmesine neden olunmuş. *H. hepaticus* infeksiyonu ile yüksek CD45RB CD4+ T hücre yeniden yapılandırmasıyla insan İBH'na benzer ağır hastalık tablosu oluşmaktadır. Bu çalışmada *H. hepaticus*'un İBH'ye neden olabileceği gösterilmiştir (8).

Chin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada T hücre reseptör (THR) alpha zincir defekti (THR alpha -/-) ve THR beta zincir defekli (THR beta -/-) farelerde kronik intestinal inflamasyon geliştiğini bulmuşlardır. Bakteriyel patojenler ile infeksiyon gelişimi araştırılmış. THR alpha -/-, beta -/- ve alfabeta -/- mutasyonlu farelerin bir kısmı *H. hepaticus* ile enfekte edilmiş. Infekte edilen fareler 3. , 6. ve 9. ayda inokülasyon sonrası intestinal lezyonlar açısından değerlendirilmiş. Infekte edilen mutasyonlu farelerde intestinal epitelyum hücre hiperplazisi ve mukozal inflamasyon geliştiği görülmüş (15).

Tablo 2. *Hp* negatif IBH hastaları

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	ÜNT*	Mide Biyopsi	Tanı	Aktivite**
31	53	K	Yok	Negatif	Crohn	161
32	46	K	Yok	Negatif	Crohn	172
33	31	E	Yok	Negatif	Crohn	187
34	37	E	Yok	Negatif	Crohn	171
35	28	K	Yok	Negatif	Crohn	215
36	48	K	Yok	Negatif	Crohn	243
37	43	E	Yok	Negatif	Crohn	286
38	24	K	Yok	Negatif	Crohn	237
39	17	K	Yok	Negatif	Crohn	300
40	36	K	Yok	Negatif	Crohn	168
41	24	E	Negatif	Yok	Crohn	171
42	68	E	Yok	Negatif	Crohn	302
43	58	K	Yok	Negatif	Crohn	201
44	39	K	Yok	Negatif	Crohn	167
45	29	E	Yok	Negatif	Crohn	256
46	46	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
47	44	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
48	20	K	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
49	24	K	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
50	38	K	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
51	23	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
52	21	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
53	68	K	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
54	48	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
55	70	E	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
56	63	E	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
57	45	K	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
58	55	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
59	59	E	Yok	Negatif	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır
60	52	E	Negatif	Yok	Ülseratif Kolit	Orta-Ağır

\*ÜNT: Üre Nefes Testi, \*\*CHAI: Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi veya ÜK Trulove ve Witts Sınıflaması.

Kullberg ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada interleukin (IL)-10  $-/-$  farelerde spesifik patojen free (SPF) durum yaratılmış. Bu fareler *H. hepaticus* ile infekte edilmiş. IL-10  $-/-$  olan ve olmayan fareler *H. hepaticus* ile infekte edildikten sonra immunglobulinler, interferonlar, IL düzeyleri ölçülmüş. IL-10  $-/-$  farelerde bağırsak inflamasyonu daha hafif olduğu görülmüş. Bu farelerde interferon-gamma ve IL-12 düzeyleri daha düşük bulunmuş. Sonuç olarak *H. hepaticus*'un interferon-gamma ve IL-12'ye bağlı mekanizma ile koliti tetiklediği belirtilmiş (16).

İnsanlar üzerinde de IBH ile *Hp* birlikteliği araştırılmıştır. Zhang ve arkadaşları 21 çocukta *Helikobakter* suşlarının kolonik inflamasyon ile ilişkisini araştırmışlar. 21 çocuğa diagnostik kolonoskopi yapmışlar. Çocukların gastroskopisinde hızlı üreaz testiyle 20/21 *Hp* negatif bulunmuş. Hastaların kolon biyopsileri PCR ile değerlendirilmiş. Hastaların 12'sine IBH, 5'ine irritable bağırsak sendromu (IBS) tanısı konulmuş. 4 hastada kolonoskopi yapıldığı zaman gastrointestinal semptom yokmuş. IBH olanların 11/12, IBS olanların 5/5 ve normal

olanların 1/4'ünde PCR ile *Helikobakter* suşları tespit edilmiş. Sonuçta IBH olanların %92'sinde, normallerin %25'inde kolon mukozasında *Helikobakter* tespit edilmiş (17). Bu çalışmada hastalar çocukluk çağındadır. Biz erişkinlerde *Hp* tespit edemedik. Ayrıca hasta ve kontrol sayısı da bizim çalışmamızdan daha azdır. Ancak kullandığımız yöntem farklı olduğu için biz *Hp*'yi tespit edememiş olabiliriz.

Oliveira ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ÜK'de *Helikobakter* türlerini araştırmışlar. Çalışmaya 42 ÜK hastası ve 74 normal kolonlu vaka alınmış. Hastaların terminal ileum, çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid ve rektumlarından biyopsi almışlar. Biyopsi materyalini *Helikobakter* türleri için PCR ile değerlendirmişler. Sonuçta ÜK hastalarının 8'inde (%19) ve kontrol grubunun 7'sinde (%9.5) DNA pozitif saptanmış ( $p=0.23$ ). Bunların hepside *Hp* DNA'sı olduğunu bulmuşlar. Gastrik *Hp* açısından iki grup arasında anlamlı fark bulamamışlar. *Hp* ile ÜK arasında ilişki tespit edemediklerini bildirmişler (18).

Yine Oliveria ve arkadaşları benzer bir çalışmayı Crohn hastalığı (CH) olanlarda yapmışlar. CH olanlarda ve normal kolonu olanların intestinal mukozasında Helikobakter türlerini PCR ile araştırmışlar. Çalışmaya 107 kişi alınmış, 43'ü CH ve 74'ü IBH olmayan hastaymış. İleum, değişik kolon fragmentleri ve rektumdan alınan örnekler çalışılmış. Helikobakter türleri DNA'sı Crohn hastalarının 17'sinde (%39.5) ve kontrol hastalarının 10'unda (%13.5) PCR ile saptanmış ve bunların hepsi *Hp* DNA'sı imiş ( $p=0.002$ ). Crohn hastalarında anti-*Hp* IgG düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük saptamışlar. Crohn hastalarında kontrol grubuna göre İstatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla *Hp* DNA'sını PCR ile tespit etmişler (9). IBH'da kolonda *Hp* araştırılan çalışmalarda *Hp* tanı metodu olarak PCR kullanılmış ve %9.5 ile %39.5 arasında değişen oranda pozitiflik elde edilmiş. Bu iki çalışmayla bizim çalışmamız karşılaştırıldığında kullanılan yöntemler farklıdır. Ayrıca Oliveria ve arkadaşlarının çalışmasında vaka ve kontrol grubu arasında önemli fark vardır. Biz iki grubu da eşit alma-

mıza rağmen muhtemel yönetime bağlı *Hp* saptayamadık.

Biz çalışmamızda kolon poliplerinde *Hp*'yi tespit eden İHK yöntemi kullandık. IBH hastalarında bu yöntemin *Hp*'yi gösteremeyeceğini araştırdık. Fakat ne IBH olan 60 hastalık vaka grubunda ne de 60 hastalık normal kolonoskopili kontrol grubunda, gastrik *Hp* varlığından bağımsız olarak *Hp*'ye İHK yöntem ile rastlamadık. Bu sonucumuz iki nedenle literatür bilgileriyle uyumsuzdur. İHK yöntemle kolon poliplerinde *Hp* gösterilme oranı düşüktür. Bizim olgu sayımız artırıldığında belki biz de *Hp*'yi İHK yöntem ile gösterebiliriz veya *Hp* direk olarak mukozada değil, poliplerde bulunuyordu. İkinci olarak IBH'da PCR yöntemiyle karşılaştırıldığında bizim kullandığımız İHK yöntemin daha az sensitif olabileceği düşünülebilir. Bu nedenle çalışmamızı hem vaka sayısını artırarak hem de ek olarak aynı hastalarda PCR yöntemi kullanarak İHK'nın etkinliğinin değerlendirilmesi düşünülebilir. Sonuç olarak IBH'da *Hp*'yi kolon mukozasında İHK yöntem ile göstermede yeterli başarı sağlanamamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Israel D A, Peek RM. Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1271-90.
2. Cave DR. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Am J Med* 1996;100:125-175; discussion 175-185.
3. Bures J, Kopacova M, Koupil I, et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in the Czech Republic. *Helicobacter* 2006;11:56-65.
4. Sachs G, Weeks DL, Melchers K, Scott DR. The gastric biology of *Helicobacter pylori*. *Annu Rev Physiol* 2003; 65:349-69.
5. Ramarao N, Meyer TF. *Helicobacter pylori* resists phagocytosis by macrophages: quantitative assessment by confocal microscopy and fluorescence-activated cell sorting. *Infect Immun* 2001;69:2604-11.
6. Crabtree JE. Immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;215:3-10.
7. Pellicano R, Franceschi F, Saracco G, et al. Helicobacters and extragastric diseases. *Helicobacter* 2009;14 Suppl 1:58-68.
8. Cahill RJ, Foltz CJ, Fox JG, et al. Inflammatory bowel disease: an immunity-mediated condition triggered by bacterial infection with *Helicobacter hepaticus*. *Infect Immun* 1997;65:3126-31.
9. Oliveira AG, Rocha GA, Rocha AM, et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from the intestinal mucosa of patients with Crohn's disease. *Helicobacter* 2006;11:2-9.
10. Keenan JI, Beaugie CR, Jasmann B, et al. Helicobacter species in the human colon. *Colorectal Dis* 2010;12:48-53.
11. Soylu A, Ozkara S, Alis H, et al. Immunohistochemical testing for *Helicobacter pylori* existence in neoplasms of the colon. *BMC Gastroenterol* 2008;8:35.
12. Hansen R, Thomson JM, El-Omar EM, Hold GL. The role of infection in the aetiology of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2010;45: 266-76.
13. Vaira D, Gatta L, Ricci C, Miglioli M. Review article: diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16 Suppl 1:16-23.
14. Jones M, Helliwell P, Pritchard C, et al. Helicobacter pylori in colorectal neoplasms: is there an aetiological relationship? *World J Surg Oncol* 2007;5:51.
15. Chin EY, Dangler CA, Fox JG, Schauer DB. Helicobacter hepaticus infection triggers inflammatory bowel disease in T cell receptor alphabeta mutant mice. *Comp Med* 2000;50:586-94.
16. Kullberg MC, Rothfuchs AG, Jankovic D, et al. Helicobacter hepaticus-induced colitis in interleukin-10-deficient mice: cytokine requirements for the induction and maintenance of intestinal inflammation. *Infect Immun* 2001;69:4232-41.
17. Zhang L, Day A, McKenzie G, Mitchell H. Nongastric Helicobacter species detected in the intestinal tract of children. *J Clin Microbiol* 2006;44:2276-9.
18. Oliveira AG, das Graças Pimenta Sanna M, Rocha GA, et al. Helicobacter species in the intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2004;42:384-6.