

Helikobakter Piloni İnfeksiyonu ve Artmış Kardeş Kromatid Değişimi

HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND INCREASED SISTER CHROMATID EXCHANGE

Yusuf ÖZKUL*, Kadri GÜVEN", Hamiyet DÖNMEZ*

* Dr.Erciye» Üniversitesi Tıp Fakülte», Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD,
** DrEroyes Üniversitesi Tıp Fakültesi. Gastroenteroloji BD, KAYSERİ

ÖZET

Bu çalışmada, Helikobakter pylori (HP) infeksiyonu ile mutajenik etkiye sahip etkenlerin, genotoksik potansiyellerini yansıtan kardeş kromatid değişimi (KKD) arasındaki ilişki araştırıldı, Dispeptik semptomları sebebiyle endoskopik tetkikleri yapılan 56 hasta çalışma grubunu oluşturdu HP varlığı, endoskopiasında hızlı üreaz testi(CLO test) kullanılarak belirtildi. Hastaların kan örneklerinde kardeş kromatid değişimi araştırıldı HP infeksiyonu olan hastalarda ortalama KKD/hücre oranı $0.28 \pm 1M$ bulundu. HP infeksiyonu bulunmayan hastalarda ortalama KKD/hücre oranı 6.13 ± 1.0 olup, HP infeksiyonlu hastalardan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.001$). En yüksek KKD değeri 10.62 ± 0.01 Us mide kanserli hastalarda tesbit edildi

Bulgularımız HP infeksiyonunda KKD'nin arttığını gösterdi Bu bulgu HP infeksiyonu ile mide kameri gelişimi arasındaki ilişkinin varlığını destekleyebilir.

Anahtar Kelimeler: Helikobakter pylori infeksiyonu, Kardeş kromatid değişimi, Mide kanseri

T Klin Gastroenterohepatoloji 1996, 7:10-12

Marshall ve Warren (1), ilk kez kronik aktif gastritli hastaların antrum epitellerinde, daha önceden tesbit edilememiş ve halen Helicobacter pylori (HP) olarak isimlendirilen bakteriyi tanımladılar. HP artan ölçüde ilginin odağı haline geldi. Bu basillerin gastroduodenal mukozadaki mevcudiyeti, gastrit ve peptik ülser ile yakından ilişkilidir. Çeşitli çalışmalarda da, HP ile mide kanseri arasında kuvvetli bir ilişkinin varlığı ileri sürülmüştür (2-

Geliş Tarihi: 15.1.1996

Yazışma Adresi: Dr.Kadri GÜVEN
Erciyes Üniversitesi Tıp fakültesi,
Gastroenteroloji BD,
38038 KAYSERİ

SUMMARY

We studied the relation between Helicobacter pylori (HP) infection and sister chromatid exchanges (SCE) which reflect the genotoxic potential of any mutagenic agent. Fifty-six patients who had undergone endoscopic procedure for dyspeptic symptoms comprised the study group. HP status was determined by using rapid urease test during endoscopy. Sister chromatid exchanges were investigated from blood samples of these patients. Mean SCE/cell values were found to be 9.28 ± 1.95 in patients with HP infection. Mean SCE/cell value of patients without HP infection was 6.93 ± 1.19 and significantly lower than patients with HP infection (6.93 ± 1.19 versus 9.28 ± 1.95 , $p < 0.001$). The highest value was in gastric cancer patients as 10.62 ± 0.01 .

Our findings suggest that Helicobacter pylori infection leads to increased numbers of sister chromatid exchanges. This finding may support the relation between HP infection and risk for gastric carcinogenesis.

Key Words: Helicobacter pylori infection, Sister chromatid exchange, Gastric cancer

T Klin J Gastroenterohepatol 1996, 7:10-12

4). Ancak halen kesin bir sebep sonuç ilişkisi ispatlanabilmiş değildir.

Kardeş kromatid değişimi (KKD), çeşitli mutajenik ve karsinojenik etkenlerin genotoksik potansiyelini değerlendirmede kullanılan hızlı, duyarlı ve basit bir sitogenetik testtir (5). KKD, bir kromozomun kardeş kromatidleri arasındaki sayısal değişimi ifade eder. Bu moleküler değişimler, ışık mikroskobu altında, metafaz plaklarında kolaylıkla tesbit edilebilir. Artan kardeş kromatid değişimi sayısı mutajenik etkinin varlığını gösterebilir (6)-

Bu çalışma, HP infeksiyonlu hastalarda, HP'nin periferik kan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimini ne şekilde etkilediğini araştırmak amacıyla yapıldı.

MATERYEL VE METOD

Dispeptik şikayetten olan 56 hasta çalışmaya alındı. Sigara alışkanlığı olan ve ilaç kullanan hastalar çalışma kapsamı dışında bırakıldı. Dispeptik semptomlar endoskopik tetkik ile teşhis edildi. Endoskopik tetkiklerde ön görüşlü standart gastroskop (Olympus-GIF Q10) kullanıldı. Hastaların HP durumları, antral biyopsi materyallerinde üreaz enzimi aktivitesini yüksek duyarlılık ve özgünlükle yansıtan hızlı üreaz testi (CLO test, Delta West, Avustralya) ile tayin edildi. Takiben sitogenetik analiz için 10 ml heparinli periferik kan örnekleri aseptik koşullarda alındı.

Sitogenetik Analiz

Lenfosit kültürü yapmak için; %20 fetal kalf serumu (Seromed), 100 u/ml penisilin (Seromed) ve 1.5 ml fitohemaglutinin (Seromed) ile zenginleştirilmiş Ham F-10 kültür ortamı hazırlandı. Her hasta için 10 ml kültür ortamı kullanıldı. Kültürün başlangıcında, sonuç 5-bromodeoksiüridin konsantrasyonu 10^{-6} M olacak BndU (Sigma) ilave edildi. Kültürler %5 CO₂ ortamında 72 saat süreyle 37°C'de ve karanlıkta inkübe edildi, inkübasyonun son 2 saatinde, mitozu durdurmak için hor bir kültür tüpüne 0.5 ug/ml kolşisin (Seromed) ilave edildi. Kromozom preparatları standart metodlara uygun olarak hazırlandı. KKD'ini gözlemek için Wolff ve Perry'nin yöntemleri, laboratuvar koşullarımıza uygun hale getirilerek uygulandı ve %5'lik Giemsa boyası ile boyandı (7). Her preparattan en az 30 metafaz alanı incelenerek, ortalama KKD/hücre sayıları hesaplandı.

Ortalama KKD sayılarına ait veriler student t testi ile karşılaştırıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Çalışma grubunu 56 hasta oluşturdu. Hastaların 36'sı bayan ve 20'si erkekti. Yaş ortalamaları 38.1 olup, 24-66 arasında idi. Otuzdört hasta HP(+) (%60.7) ve 22 hasta HP (-), (%39.3) olarak seçildi. HP (+) 34 hastada en sık rastlanan endoskopik patoloji gastrit olarak saptandı (22:34, %64.7). HP (+) hastalardaki diğer patolojileri 8 hastada duodenal ülser (%23.5), 2 hastada mide ülseri (%5.9) ve 2 hastada mide kanseri (%5.9) oluşturdu.

KKD sayıları, hastaların HP durumlarını bilmeyen çalışmacılar tarafından değerlendirildi. HP(+) hastalarda ortalama KKD/hücre sayısı 9.28 ± 1.95 idi HP(+) alt gruplarının ortalama KKD/hücre sayıları açısından aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). HP (-) hastalarda ortalama KKD/hücre sayıları 6.93 ± 1.19 , HP (+) olanlardan anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0.001$). En yüksek KKD/hücre sayısı mide kanserli hastalarda tesbit edildi (10.62 ± 0.01).

Hastaların HP durumları, endoskopik bulguları ve KKD/hücre sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 Hastaların HP durumları, endoskopik bulguları ve KKD/hücre sayıları

HP	N(%)	KKD/hücre*
POZİTİF	34(60.7)	$9.28 \pm 1.95^{**}$
Gastrit	22(64.7)	8.99 ± 2.29
Duodenal ülser	8(23.5)	9.56 ± 1.08
Mide ülseri	2(5.9)	9.88 ± 0.01
Mide kanseri	2(5.9)	10.62 ± 0.01
NEGATİF	22(39.3)	$6.93 \pm 1.19^{**}$

HP: Hstikobakter pilori, *Ortalama \pm SD, ** $p < 0.001$

TARTIŞMA

Bu çalışmada, HP(+) hastaların periferik karı lenfositlerinde, HP(-) hastalara göre anlamlı sayıda KKD artışı tesbit edildi. Artmış KKD sayıları, genotoksik potansiyelli güvenilir bir göstergesi kabul edildiğinden, HP'nin mide kanseri gelişimi açısından mutajenik ya da karsinojenik bir etken olabileceği fikrini desteklemektedir.

Diğer taraftan, kronik HP inlokasyonunun mide kanseri için önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür (2-4,8). Parsonnel ve ark (2), mide kanserli hastalarda artmış HP infoksiyonu (%84) oranlarını göstermişlerdir. Bu oran kontrol grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur (%61). Bir diğer çalışmada, HP infeksiyonu mide kanserli hastaların %94'ünde mevcutken, eşlenmiş kontrol grubunun sadece %76'sında tesbit edilmiştir (3), Forman ve ark (4) da, HP infeksiyonu ile gastrik kanser riski arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Mide kanserli hastalarda HP'ye karşı antikör oranının anlamlı derecede yüksek seviyelerde olduğunu göstermişlerdir. Kısa süre önceki bir çalışmada da, mide kanser hücrelerinin in vitro olarak HP'ye karşı gelişmiş insan ortoklonal antikörleri ile çapraz reaksiyon gösterdiklerine dikkat çekilmiştir (9).

HP'nin mide kanseri gelişmesindeki rolü konusunda çeşitli mekanizmalar söz konusudur (8):

1. HP'ye ait metaboik ürünler direkt olarak mukozada transformasyona yol açabilir.

2. HP DNA'sı, hücre DNA'sı ile birleşerek transformasyona sebep olabilir,

3. HP'nin oluşturduğu inflamatuar cevabın genotoksik etkisi olduğu ön görülmektedir.

Bunlardan özellikle sonuncu mekanizma mevcut verileri oklukça uyumludur. Kronik inflamasyonun mutajeneze yol açtığı ve kansere ilerlediği bilinmektedir. Ülseratif kolit-kolorektal kanser, mesane şizozomtyazisi-mesane kanseri ve kronik osteomyelit-yassı hücreli kemik kanseri iyi tanımlanmış örneklerdendir (8). Kronik inflamasyonlar hücre proliferasyonunu artırır. Artmış hücre proliferasyonu hücre DNA'sında spontan replikasyon hatası riskini yükseltir. İlaveten, çoğalan

DNA tek sarmalları ekzojen mitojenlerin genotoksik etkilerine karşı daha duyarlı durumda bulunurlar. HP'nin hücre proliferasyonunu artırmasında; lenfosit smokinlerine cevap olarak üretilen epidermal büyüme faktörü oluşturulması, artmış amonyak üretimi ile ortamdaki nötrofülerin serbest oksijen radikalleri salgılayarak DNA sarmalı kırıkları, baz hasarları ve kardeş kromatid değişimlerine yol açtıkları Heri sürülmektedir (8).

Neticede, HP sadece kendisi oluşturduğu inflamasyonla mitozu indüklemekle kalmamakta, ayrıca çeşitli endojen mutajenlerin oluşmasına yol açıyor görünmektedir. Mevcut çalışma da, HP'nin bu tür bir genotoksik etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızın bulguları; HP(+) hastalarda, HP(-) olanlara göre artmış KKD sayıları bulunduğunu ve dolayısıyla HP infeksiyonu ile mide kanseri arasında muhtemel bir ilişkinin varlığını düşündürmüştür. En azından mide kanseri riski açısından HP önemli bir faktör olarak görünmektedir. Ancak kesin sebep sonuç ilişkisinin kurulabilmesi için, mevcut bulgular ışığında geniş prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-5.
2. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-31.
3. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez GIP, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991; 325:1132-6.
4. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yamell JWG, Stacey AR, Wald N, Silas F. Association between infection with Helicobacter pylori and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991; 302:1302-5.
5. Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-cardiogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 1975; 258:121-5.
6. Dass BC. Factors that influence formation of sister chromatid exchanges in human blood lymphocytes. *CRC Critical Reviews in Toxicology* 1988; 19:43-86.
7. Wolff S, Perry P. Differential Giemsa staining of sister chromatids and the study of SCE without autoradiography. *Chromosoma* 1974; 48: 341-53.
8. Parsonnet J. Helicobacter pylori and gastric cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 89-104.
9. Vollmers HP, Dammrich J, Ribbert H, Grassel S, Debus S, Heesemann J, Hermelink HKM. Human monoclonal antibodies from stomach carcinoma patients react with Helicobacter pylori and stimulate stomach cancer cells in vitro. *Cancer* 1994, 74:1525-32.
10. Jackson JH, Gajews W E, Schraufatter IU, et al. Damage to the bases in DNA induced by stimulated human neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84:1644-9.