



Helicobacter pylori ile Enfekte Çocukların Yanak Epiteli Döküntü Hücrelerinde Mikronükleer ve Binükleer Hücre Sıklığının Değerlendirilmesi

Evaluation of Micronucleer and Binucleer Cells Frequencies in Buccal Epithelial Cells of Children Infected with *Helicobacter pylori*

Zehra SAFİ ÖZ¹ , Gonca Handan ÜSTÜNDAĞ² , Halime TOPUZ² , Nilüfer ONAK KANDEMİR³ 

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

³T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

ORCID ID: Zehra Safi Öz 0000-0003-1359-5026, Gonca Handan Üstündağ 0000-0003-3027-833X, Halime Topuz 0000-0002-0696-8173, Nilüfer Onak Kandemir 0000-0001-9035-4475

Bu makaleye yapılacak atıf: Safi Öz Z ve ark. *Helicobacter pylori* ile enfekte çocukların yanak epiteli döküntü hücrelerinde mikronükleer ve binükleer hücre sıklığının değerlendirilmesi. Med J West Black Sea. 2023;7(1):45-50.

Sorumlu Yazar

Zehra Safi Öz

E-posta

safizehra@yahoo.com

Geliş Tarihi

18.11.2022

Revizyon Tarihi

04.01.2023

Kabul Tarihi

20.01.2023

ÖZ

Amaç: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) gastroduodenal inflamasyon, ülser ve atrofik gastrite yol açan bakteriyel bir patojendir. Mikronükleus (MN)' lar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan esas çekirdeğe dahil olmayan oluşumlardır. Bu çalışmada, *H. pylori* ile mikronükleer ve binükleer hücre arasındaki ilişkinin eksfoliyatif sitoloji yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji polikliniğine yaşam kalitesini etkileyecek tarzda ciddi dispeptik yakınmalarla başvuran ve endoskopik biyopsi yapılan hastalar yer aldı. Biyopsi örnekleri formalinde fikse edildi ve parafin bloklardan hazırlanan kesitler Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyandı. *H. pylori* varlığı açısından ışık mikroskopik olarak değerlendirildi. Biyopsi sonucu sadece *H. pylori* pozitif örnekler çalışma grubu (n=30) hiçbir enfeksiyon etkeni saptanmayanlar ise kontrol grubu (n=30) olarak alındı. Tüm bireylerden alınan yanak epitel hücreleri lamplara yayıldı, % 95'lik etil alkolde fikse edildi ve Papanicolaou boyama yöntemine göre boyandı. Mikronükleer ve binükleer hücreler iyi boyanmış 1000 epitel hücrede sayıldı. İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Çalışmamızda yer alan çocuklar 7 ile 15 yaşları arasında olup çalışma grubunun yaş ortalaması 11,87± 2,92, kontrol grubunun ise 11,63± 2,73'tür. *H. pylori* pozitif çocuklarda mikronükleer ve binükleer hücreler kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0.001).

Sonuç: Mikronükleer ve binükleer hücreler, *H.pylori* patogenezinde genotoksik hasarın ve düzensiz sitoplazma bölünmesinin önemli olduğunu vurgulamıştır. Kullanılan yöntemin *H. pylori* ön tanısında kolay uygulanabilen, az maliyetli invaziv olmayan tanı yöntemi olma yönünde aday olabileceği düşünülmekle birlikte bu sonucun daha geniş örneklemle teyit edilmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Binükleer hücre, DNA hasarı, *Helicobacter pylori*, mikronükleus, PAP boyama

ABSTRACT

Aim: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a bacterial pathogen that causes gastroduodenal inflammation, ulcer and atrophic gastritis. Micronuclei (MNs) are formations that are not included in the main nucleus that emerge during the mitosis of the cell. In this study, it was aimed to evaluate the relationship between *H. pylori* and micronuclear and binuclear cells using exfoliative cytology method.



Bu eser "Creative Commons Atımlı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

Material and Methods: In this study, patients who applied to the Pediatric Gastroenterology outpatient clinic of Zonguldak Bülent Ecevit University Practice and Research Hospital with severe dyspeptic complaints that would affect their quality of life and underwent endoscopic biopsy were included. Biopsy samples were fixed in formalin and sections prepared from paraffin blocks were stained with Hematoxylin & Eosin (H&E). It was evaluated light microscopically for the presence of *H. pylori*. Only *H. pylori* positive specimens as a result of biopsy were taken as the study group (n=30), and those with no infectious agents were taken as the control group (n=30). Buccal epithelial cells from all patients were spread on slides, fixed in 95% ethanol and stained according to the Papanicolaou technique. Micronuclear and binuclear cells were counted in 1000 well-stained epithelial cells. Statistical evaluation SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program was used and $p<0.05$ was considered significant.

Results: The children in our study were between the ages of 7 and 15, and the mean age of the study group was 11.87 ± 2.92 , and the control group was 11.63 ± 2.73 . Micronuclear and binuclear cells were found to be significantly higher in *H. pylori* positive children compared to the control group ($p<0.001$).

Conclusion: Micronuclear and binuclear cells emphasized that genotoxic damage and irregular cytoplasm division are important in the pathogenesis of *H. pylori*. Although it is thought that the method used may be a candidate to be an easy-to-apply, low-cost non-invasive diagnostic method in the preliminary diagnosis of *H. pylori*, this result needs to be confirmed with a larger sample.

Keywords: Binuclear cell, DNA damage, *Helicobacter pylori*, mikronucleus, PAP technique

GİRİŞ

Helicobacter pylori (*H. pylori*), ilk defa 1983 yılında Marshall ve Warren tarafından tanımlanan gram negatif, spiral şekilli, hareketli, mikroaerofilik ve kamçıli bakteriyel bir patojendir (1). Organizma, düşük oksijen seviyesi, öğünler arasında uzun aralıklar, sıcaklık, pH değişiklikleri ve antibiyotik tedavisi gibi olumsuz çevre koşullarında bile hayatta kalabilmektedir. *H. pylori*, genellikle spiral şeklinde olmasına rağmen çubuk şeklinde de görülebilir. Ayrıca, uzun süreli in vitro kültür ve hatta antibiyotik tedavisi sırasında kokoid şekillerde de olabilir. Spiralden kokoid forma geçme yeteneği, aynı zamanda bu bakterinin konakçının gastrointestinal sisteminde hayatta kalmak için kullandığı önemli mekanizmalardan biri olup enfeksiyonun tedavisinde büyük zorluklara neden olabilmektedir (2). *H. pylori*'nin neden olduğu enfeksiyon, dünyada en sık görülen enfeksiyonlardan biri olup dünya nüfusunun yarısından fazlasını etkilemektedir (3-5). Türkiye'den bildirilen çalışmalarda yetişkinlerin %70-80'inin çocukların ise % 30-56'sının bu bakteri ile enfekte olduğu bildirilmektedir (6). Patojen, çocukluk çağına alınmakla birlikte ağır klinik tablo genellikle yetişkinlik döneminde görülmektedir (7). *H. pylori* gastrik ve duodenal ülser ve atrofik gastrite yol açmasının yanısıra uzun dönemde lenfoma ve adenokarsinoma da neden olmaktadır (3-5).

Helicobacter pylori tanısında kullanılan invaziv testler arasında endoskopik biyopsi ile alınan parçanın histopatolojik olarak incelenmesi, hızlı üreaz testi, kültürde üretilmesi, PCR uygulaması varken invaziv olmayan testler arasında ise üre nefes testi, gaitada antijen tayini ve serolojik ve moleküler testler yer almaktadır (8). *H. pylori*, gastrik epitelial hücre proliferasyonu ve DNA hasarında artış, inflamasyon, oksidatif stres, özellikle çift zincir kırıkları ve genomik kararsızlığa neden olmaktadır (9-13). Organizma bu hasarlara karşın DNA tamir mekanizmalarını devreye sokmaya çalışırken bu kez patojen bu tamir mekanizmasını da engellemeye çalışmaktadır. DNA hasarı neticesinde hücre çekirdeğinde

önemli değişiklikler oluşmaktadır. Bu değişikliklerden biri de mikronükleusların (MN) oluşumudur. MN'lar, hücrenin mitoz bölünmesi sırasında serbest kalan kromozom fragmentinin ya da kromozomların bir zarla çevrilmesi ile oluşan ve ana nükleusun yanında yer alan yapılardır. MN'ler pek çok farklı yöntem ile gösterilebilmektedir (14-16). DNA hasarı pek çok moleküler yöntemle gösterilmekte ancak bu yöntemler oldukça pahalı ekipmanları gerektirmektedir (17). MN'lerin ışık mikroskopik olarak değerlendirildiği yöntemlerden biri de eksfoliyatif sitoloji yöntemidir. Eksfoliyatif sitoloji dökülen hücrelerin alınarak lamalar üzerine yayılması ve özel boyalarla boyanıp mikroskopik olarak incelenmesi esasına dayanmakta olup yanak ve dil epitel hücrelerine de uygulanabilmektedir (14-18).

Bu çalışmada, *H. pylori* ile DNA hasarının, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak kabul edilen mikronükleer ve binükleer hücre sıklığının yanak epiteli hücrelerinde değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmada *H. pylori* ile hücrenin mitoz bölünmesi sırasında serbest kalan kromozom fragmentinin ya da kromozomların bir zarla çevrilmesi ile oluşan, ana nükleusun yanında yer alan ve DNA hasarının indirekt göstergelerinden biri olan mikronükleer hücreler arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji Polikliniğine yaşam kalitesini etkileyecek tarzda ciddi dispeptik yakınmalarla başvuran ve endoskopik biyopsi sonucu *H. pylori* pozitif ve negatif bulunan kişiler çalışma kapsamına alındı. Çalışmanın örneklem büyüklüğü Cohen'in* tanımladığı "large effect size" a göre yapıldı (19). Hastaların yaşı, cinsiyeti ve başvuru yakınmaları kaydedildi, kronik enfeksiyonu olan ve sürekli ilaç kullandığı belirlenen hastalar çalışmaya alınmadı.

Bu çalışmanın etik kurul izni Helsinki Deklarasyonu çerçevesinde, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştır-

malar Etik kurulundan 03.06.2010 tarih ve 2010/03-11 karar no ile alındı.

Histopatolojik değerlendirme

Üst GİS endoskopisi yapılarak alınan biyopsi örnekleri formalinde fikse edildi. Doku takibinde parafin bloklardan hazırlanan kesitler Hematoksilin & Eozin (H&E) ile boyandı. *H. pylori* varlığı açısından ışık mikroskopik olarak değerlendirildi (Olympus BX 51). *H. pylori* yoğunluğu ise Sydney sınıflamasına göre yok (0), hafif (+1), orta (+2), şiddetli (+3) olarak gruplandı. Biyopsi değerlendirilmesinde ve yanak epitel hücre yaymasında *H. pylori* ile birlikte farklı bir enfeksiyon etkeni saptanan bireyler de çalışma kapsamına alınmadı.

Sitolojik Değerlendirme

Çalışma kapsamında yer alan tüm bireylerden sitolojik değerlendirme için ise yanak epitel döküntü hücreleri alınıp, lamlara yayıldı ve %95'lik etil alkolde fikse edildi. Hazırlanan yaymalar Papanicolaou (PAP) boyama yöntemine göre boyanıp ışık mikroskopik (Olympus BX 51) olarak nükleer değişiklikler açısından değerlendirildi. İyi boyanmış 1000 epitel hücrede mikronükleer hücreler yine aynı mikroskopta sayıldı. MN tanımlamasında; MN çapı ana nükleusun 1/3'ü kadar ya da daha küçük olmalı, ana nükleus ile aynı yoğunluğa ve boyanma kalitesine sahip olmalı, ana nükleusun yakınında ya da aralarındaki sınır belirli olmak kaydı ile teğet olmalı kriterleri kullanıldı (20). Aynı yaymalar iyi boyanmış 1000 epitel hücrede binükleer hücre varlığı açısından da değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilks testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalaması±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Sayısal değişkenler bakımından

iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamındaki hastaların yaşları 7-15 arasındadır. *H. pylori* pozitif (Ort. \pm SS = 11,87 \pm 2,92) ve negatif (Ort. \pm SS=11,63 \pm 2.73) hastalarda kız, erkek oranı aynıdır (16 kız, 14 erkek). *H. pylori* pozitif hastalarda karın ağrısı şikayeti %93,3 oranı ile ön plandadır. Hastaların %60'unun (n=18) bulantı, %40'unun (n=12) kusma, %36,6'nın (n=11) pyrosis ve %43,3'ünün (n=13) regurjitasyon yakınmaları ile kliniğe başvurmuştur.

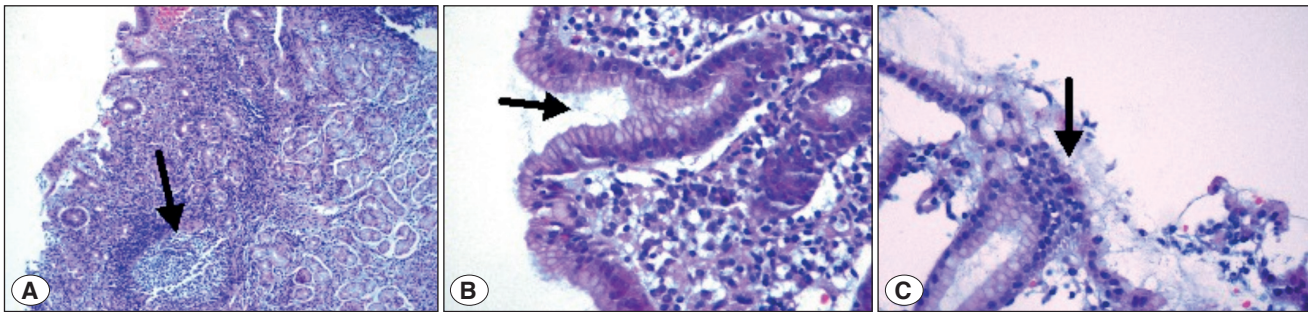
Endoskopik biyopsi örneklerinde *H. pylori* varlığı ve yoğunluğu Sydney sınıflamasına göre yapılmış olup preparatların değerlendirilmesi ışık mikroskopik olarak yapılmıştır. Şekil 1' de kriplerde ve yüzeyel mukus içerisinde yoğun basil morfolojisinde *H. pylori* ile uyumlu mikroorganizmalar ve yoğun miks tipli iltihabi hücre infiltrasyonu izlenmektedir. Yer yer bazı alanlarda münin kaybı görülmektedir (Şekil 1).

Şekil 2 de *H. pylori* pozitif hastalardan alınan yanak epitel örneklerinde normal epitel hücreler, binükleer hücreler ve Tolbert kriterlerine göre değerlendirilmiş mikronükleer hücreler sunulmuştur. Bazı yaymalarda epitel hücrelerinde tek mikronükleus görülürken bazı yaymalarda ise üç adet mikronükleus görülmüştür.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda *H. pylori* ile enfekte çocuklarda mikronükleer ve binükleer hücrelerin ortalaması (median, min-max) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$) (Şekil 3,4).

TARTIŞMA

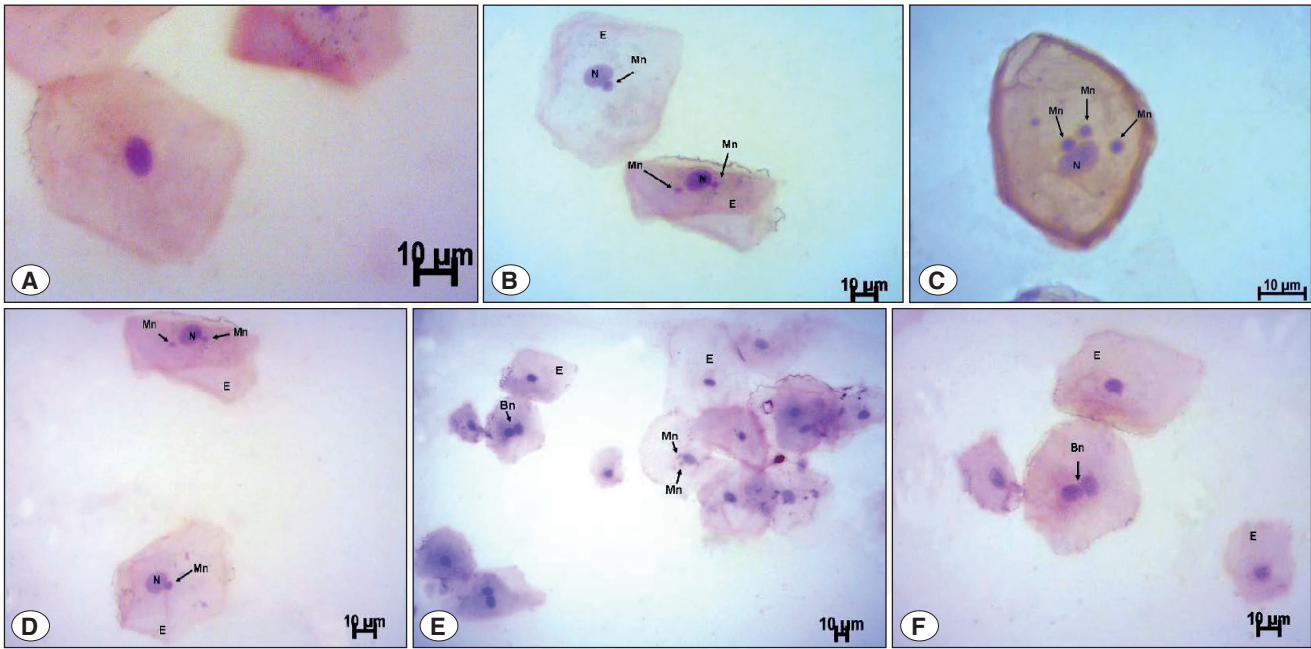
Helicobacter pylori, karsinojen olduğu saptanan ilk bakteri olup dünya nüfusunun yarıdan fazlasında bulunmaktadır. Epidemiyolojik olarak, gelişmekte olan ülke popülasyonunun %85-95'inde, gelişmiş ülkelerin ise yaklaşık %30-50'sinde



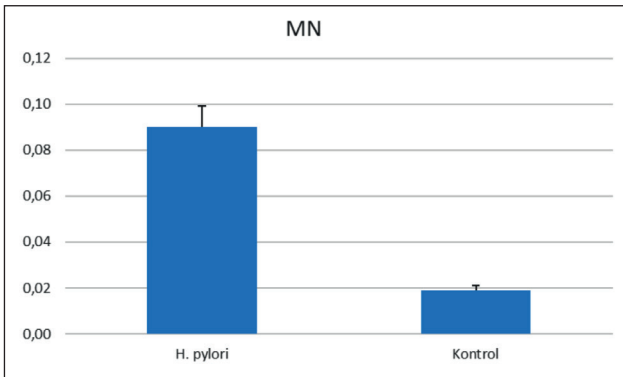
Şekil 1: A) Gastrik biyopsi örneğinde lamina propriada lenfoid agregat oluşturan yoğun miks tipli iltihabi hücre infiltrasyonu (→) izlenmektedir (Hemotoksilen-Eosin, x 200) **B)** Kriplerde yüzeyel mukus içerisinde *H. pylori* ile uyumlu mikroorganizmalar (→) dikkati çekmektedir. Lamina propriada lenfositler, plazma hücreleri eosinofil ve nötrofil lökositlerden oluşan kronik aktif inflamasyon görülmektedir (Hemotoksilen-Eosin, x 400) **C)** Yüzeyel mukus içerisinde yoğun basil morfolojisinde *H. pylori* uyumlu mikroorganizmalar (→) ve yüzey epitelinde münin kaybı izlenmektedir (Hemotoksilen-Eosin, x 630).

H. pylori enfeksiyonu vardır (2). Esas olarak midede yerleşmesine rağmen ağız boşluğu da bu bakteri için iyi bir rezervuardır (21). *H. pylori*, midenin epitel hücrelerine doğru hareket etmek ve mukus astarına nüfuz etmek için kamçı-sını kullanır. Konak epitel hücrelerine bağlanması adezinler vasıtası ile olur (2). Kronik gastrit, peptik ülserle neden olan *H. pylori*'nin fekal-oral ve oral-oral yolla bulaştığı gösterilmiştir (11,22). Kötü hijyen, beslenme ve coğrafi belirleyicilerdeki farklılıklar enfeksiyonda rol oynayan faktörlerdendir (2). Gastrik kanserler dünya genelinde kanser nedenli ölümler içerisinde ikinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde kadınlarda görülen en sık 4. kanser tipi, erkeklerde ise en sık 5. kanser tipi olarak bildirilmiştir (11).

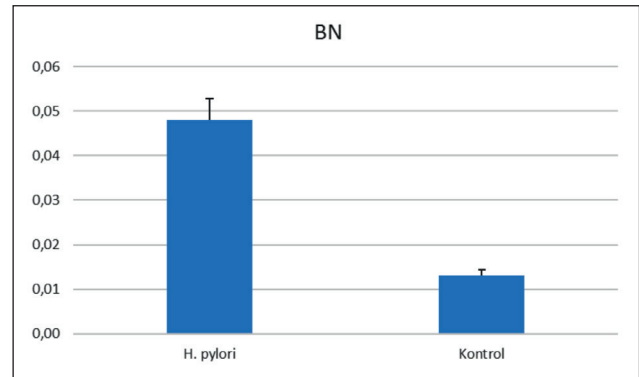
Konakçı genetik faktörleri ve genetik geçmiş, bakterinin enfeksiyondan gastrik kanser oluşumuna kadar olan sürecini önemli ölçüde etkilemektedir. Özellikle bakterinin konakçı tarafından alınımında etkili olan reseptör genlerindeki tek nükleotid gen polimorfizmleri enfeksiyon ve karsinogenez arasındaki ince çizgide rol oynamaktadır. Bu genler aynı zamanda inflamatuvar sinyale, oluşuma ve otofajiye yol açan hücresel yolları da etkilemektedir (12,23). *H. pylori*'nin neden olduğu karsinogenezde bakteriyel virülans faktörleri, kronik inflamasyonun yol açtığı oksijen radikalleri ve oksidatif stres, konakçıya bağlı intrinsik ve ekstrinsik faktörlerin bir bütün olarak tetiklediği epigenetik ve genetik mekanizmalar rol oynamaktadır (9-13). DNA hasarı, MN



Şekil 2: *Helicobacter pylori* pozitif hastalardan alınan bukkal örneklerde **A**) normal epitel hücreleri **B**) nükleus (N) ve mikronükleus (Mn, →) içeren yanak epitel hücreleri (E) **C**) nükleus (N) ve üç adet mikronükleus (MN, →) içeren yanak epitel hücresi (E) **D**) mikronükleus (Mn) içeren epitel hücreleri (E) **E**) mikronükleus (MN, →) ve binükleus (BN, →) içeren epitel hücreleri **F**) binükleus içeren epitel hücresi (BN, →) (PAP x 40).



Şekil 3: *Helicobacter pylori* pozitif ve negatif grupta mikronükleer hücre oranı.



Şekil 4: *Helicobacter pylori* pozitif ve negatif grupta Binükleer hücre oranı.

oluşumunun temelini oluşturur. MN'ler periferik kan lenfositlerinde incelenebildiği gibi yanak epitel hücrelerinde de incelenebilmektedir (24,25). Bu yöntemde memeli hücreleri mikroskopik olarak değerlendirilmekte, ana nükleusa yakın ancak daha küçük olan nükleer yapılar incelenmektedir. MN testi, sigara, pestisid, radyasyon, parazitik enfeksiyonlar ile çevresel ve mesleki etkileri değerlendirebilmek için de kullanılmaktadır (24-26). Çeşitli hastalıklarda MN oluşumu ve sıklığı son dönemde önemle üzerinde durulan konular arasında yer almaktadır. Suárez ve ark.nın *H. pylori* ile enfekte hastaların periferik kan lenfositlerinde yaptıkları çalışmada mikronükleus sıklığı artış göstermiştir. Bulgularımız Suárez ve ark.nın bulguları ile uyum içindedir (24). Çalışmamızda, örnek alımı esnasında çocuklarda herhangi bir rahatsızlık ve acıya neden olmayan, maliyeti oldukça düşük ve non-invaziv bir yöntem olan eksfoliyatif sitoloji yöntemi kullanılmış ve mikronükleus sıklığı yanak epitel hücrelerinde değerlendirilmiştir. *H. pylori* pozitif hastaların yanak epitel hücrelerinde gördüğümüz ve istatistiksel olarak da anlamlı bulunan bir diğer değişiklik ise binükleer hücrelerdir. Binükleer hücreler, birbirinin hemen hemen aynı büyüklükte ve yoğunlukta iki ana nükleus içerir. Bu hücrelerin oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılmamakta birlikte, hücre bölünmesi esnasında nükleus bölünmesini takiben sitoplazma bölünmesinin gerçekleşmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sitoplazma bölünmesinin olmamasının ve kontraktil halka oluşmamasının, hücre iskeleti elemanlarından aktin filamentlerindeki hasardan kaynaklandığı düşünülmekte olup *H. pylori* ve hücre iskeleti hasarına ilişkin hücre düzeyinde çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (26). Sonuç olarak, *Helicobacter pylori*, yanak epitel hücrelerinde mikronükleus insidansını artırmıştır. Bu patojen tarafından oluşturulan DNA hasarı, sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak kabul edilen mikronükleus testi ile incelenebilir. Eksfoliyatif sitoloji, bu bakteri tarafından oluşturulan nükleer değişikliklerin yanak epitel hücrelerinde incelenmesine olanak verir. Kolay uygulanabilen ve invaziv olmayan bu değerlendirmede, mikronükleer ve binükleer hücrelerin varlığı, *H. pylori* patogenezinde genotoksik hasarın ve düzensiz sitoplazma bölünmesinin önemli önemi olduğunu vurgulamıştır. Bu konunun açıklığa kavuşmasının *H. pylori* ve gastrik karsinogenez arasındaki ilişkinin açıklanmasına da önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Yok.

Yazar Katkı Beyanı

Makalenin planlanması, literatür taraması yanak içi epitel hücrelerinin preparasyonu ve ışık mikroskopik değerlendirilmesi, makalenin yazımı ve son gözden geçirme: **Zehra Safi Öz**, Hastaların klinik muayenesi, endoskopik değerlendirme ve biyopsi materyalinin alımı, makalenin yazımı: **Gonca Handan Üstündağ**, Hastaların klinik muayenesi ve bilgilerin toplanması: **Halime Topuz**, Biyopsi örneklerinin değerlendirmesi: **Nilüfer Onak Kandemir**.

Çıkar Çatışması

Yazarlar aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Çalışma sırasında herhangi bir kurumdan finansal destek alınmamıştır.

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik kurulundan etik onay alınmıştır (03.06.2010 tarih, 2010/03-11 Karar No).

Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayınlanmaya uygun bulunmuş ve kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311.
2. Sharndama HC, Mba IE. *Helicobacter pylori*: An up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. *Braz J Microbiol* 2022;53(1):33-50.
3. Tünger Ö. *Helicobacter pylori* enfeksiyonları. *Turkish Journal of Infection* 2008;22 (2):107-115.
4. Mărginean CO, Cotoi OS, Pitea AM, Mocanu S, Mărginean C. Assessment of the relationship between *Helicobacter pylori* infection, endoscopic appearance and histological changes of the gastric mucosa in children with gastritis (a single center experience). *Rom J Morphol Embryol* 2013;54(3 Suppl):709-715.
5. Honar N, Minazadeh A, Shakibzadeh N, Haghghat M, Saki F, Javaherizadeh H. Diagnostic accuracy of urea breath test for *Helicobacter pylori* infection in children with dyspepsia in comparison to histopathology. *Arq Gastroenterol* 2016;53(2):108-112.
6. Ustundag GH, Altuntas H, Soysal YD, Kokturk F. The effects of synbiotic "bifidobacterium lactis B94 plus inulin" addition on standard triple therapy of *Helicobacter pylori* eradication in children. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2017;2017:8130596.
7. Güven B, Gülerman F, Kaçmaz B. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu olan çocuklarda tanı testlerinin, klinik ve histopatolojik bulguların değerlendirilmesi. *Van Tıp Derg* 2019;26(3):298.
8. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SS, Wu JY, Kuo CH, Huang YK, Wu DC. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments. *World J Gastroenterol* 2015;21(40):11221-11235.
9. Schmausser B, Mueller SO, Eck M, Möller M, Müller-Hermelink H, Stopper H: *Helicobacter pylori* induces DNA damage in vitro. *Cancer Lett* 2000;152(2):145-149.
10. Kalisperati P, Spanou E, Pateras IS, Korkolopoulou P, Varvarigou A, Karavokyros I, Gorgoulis VG, Vlachoyiannopoulos PG, Sougioultzis S. Inflammation, DNA damage, *Helicobacter pylori* and gastric tumorigenesis. *Front Genet* 2017;8:20.
11. Kidane D. Molecular mechanisms of *H. pylori*-induced DNA double-strand breaks. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):2891.

12. Chmiela M, Karwowska Z, Gonciarz W, Allushi B, Stączek P. Host pathogen interactions in *Helicobacter pylori* related gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2017;23(9):1521-1540.
13. Oral D, Yirün A, Erkekoğlu P. Epigenetic and genetic changes caused by *Helicobacter pylori* and their roles in gastric carcinogenesis. *J Fac Pharm Ankara* 2019;43(3):285-308.
14. Demirel S, Zamani AG. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg* 2002;12(3):123.
15. Şekeroğlu V, Atılı Şekeroğlu Z. Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2011;68(4):241.
16. Safi Oz Z. Micronucleus scoring: An available approach in the evaluation of genomic damage in exfoliative cervicovaginal cells. *Ann Cytol Pathol* 2020;5(1):064-067.
17. Lu Y, Liu Y, Yang C. Evaluating in vitro DNA damage using comet assay. *J Vis Exp* 2017;(128):56450.
18. Bloching M, Hofmann A, LautenschlaË ger CL, Berghaus A, Grummt T. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. *Oral Oncol* 2000;36(6):550-555.
19. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, Revised ed. 1977.
20. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. *Mutat Res* 1992;271(1):69-77.
21. Qh Z, Rq L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity and gastric mucosa: A meta-analysis. *J Oral Pathol Med* 2011;40(4):317-324.
22. Guevara B, Cogdill AG. *Helicobacter pylori*: A review of current diagnostic and management strategies. *Dig Dis Sci* 2020;65(7):1917-1931.
23. Mommersteeg MC, Yu J, Peppelenbosch MP, Fuhler GM. Genetic host factors in *Helicobacter pylori*-induced carcinogenesis: Emerging new paradigms. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2018;1869(1):42-52.
24. Suárez S, Sueiro RA, Araujo M, Pardo F, Menéndez MD, Pardiñas MC, Alvarez A. Increased frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of subjects infected with *Helicobacter pylori*. *Mutat Res* 2007;626(1-2):162-170.
25. Thomas P, Hecker J, Faunt J, Fenech M. Buccal micronucleus cytome biomarkers may be associated with Alzheimer's disease. *Mutagenesis* 2007;22(6):371-379.
26. Safi Oz Z. The Interaction between Human papillomavirus proteins and cytoskeletal filaments. In: Davy Vanden Broeck, (editor). *Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - Research aspects*. Intech Publisher, 2012: 291.