

***Helicobacter pylori*'nin Gastrik Karsinogenezde Etkili Virülans Faktörlerinin Değerlendirilmesi: Sistematik Derleme ve Metaanaliz**

Evaluation of Virulence Factors of *Helicobacter pylori* of Effective in Gastric Carcinogenesis: Systematic Review and Metaanalysis

Yüksel Yaşin¹, Gülden Diniz², Şevval Evcimen¹, Emine Müge Karakayalı¹

¹Beslenme Danışmanlığı Merkezi, Ali Çetinkaya Mah. Muammer Aksoy Cad. No:6/5, Balıkesir, Ayvalık, Türkiye

²Demokrasi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada; *Helicobacter pylori*'nin gastrik kanser gelişiminde etkili olduğu düşünülen virülans faktörlerini araştıran çalışmaların sistematik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmanın evrenini, Ocak- Aralık 2022 tarihleri arasında "Pubmed", "Medline", "Dergipark", "Elsevier" ve "Google Scholar" veri tabanları ile "Networked Digital Library of Theses and Dissertations" kaynakları taranarak ulaşılan 48 makale oluşturmaktadır. Bu derlemede, son 25 yılda İngilizce ve Türkçe dillerinde yayınlanan makaleler arasından "gastrik karsinogenez", "*Helicobacter pylori*", "*Helicobacter pylori* virülans faktörleri" anahtar kelimeleri ile arama yapılarak tam metin makaleler seçilmiştir. Dahil edilme kriterlerine uygun toplam 14 araştırma makalesi bu çalışmaya dahil edilmiştir.

Bulgular: Bu sistematik derleme ve metaanaliz kapsamındaki bu 14 çalışma, *Helicobacter pylori*'nin gastrik karsinogenezi etkileyebilecek virülans faktörlerini değerlendirmektedir. Sitotoksin ilişkili gen A (CagA), vakuolatör sitotoksin A (VacA), dış zar enflamatuvar proteini (OipA), siyalik asit bağlayıcı adezin (SabA), DNA metilasyonu, üreaz, epitel ile temas yoluyla indüklenen gen (IceA), interlökin-8 ve E-cadherin'in mide karsinogenezi üzerine olan etkilerini irdelemektedir. Literatürde gastrik karsinogenezde önemli rol oynadığı öne sürülen tüm bu virülans faktörlerini birlikte irdeleyen bir çalışma yoktur.

Sonuç: Bu sistematik derleme ve meta-analizde CagA, VacA, OipA, SabA ve üreazın *Helicobacter pylori*'nin mide karsinogenezinde en etkili virülans faktörleri olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gastrik karsinogenez; *Helicobacter pylori*; virülans faktörleri.

ABSTRACT

Aim: In this study; it was aimed to systematically evaluate the studies investigating the virulence factors of *Helicobacter pylori*, which is thought to be effective in the development of gastric cancer.

Material and Methods: The population of this study consisted of 48 articles accessed by searching "Pubmed", "Medline", "Dergipark", "Elsevier" and "Google Scholar" databases and "Networked Digital Library of Theses and Dissertations" sources in dates between January and December 2022. In this review and meta analysis, the full-text articles were selected by searching with keywords "gastric carcinogenesis", "*Helicobacter pylori*", "H. pylori virulence factors" among the articles published in English and Turkish languages in the last twenty-five years. A total of 14 works that meet the research criteria were included in this study.

Results: These 14 studies within the scope of this systematic review evaluate the virulence factors of *Helicobacter pylori* that may affect gastric carcinogenesis (cytotoxin-associated gene A (CagA), vacuolizing cytotoxin A (VacA), outer membrane inflammatory protein (OipA), sialic acid-binding adhesion (SabA)), DNA methylation, urease, contact-induced epithelial gene, and e-cadherin. There was no study to evaluate all these virulence factors that are claimed to play important roles in gastric carcinogenesis in the literature.

Conclusion: In this systematic review and meta-analysis, it has been determined that CagA, VacA, OipA, SabA, and urease are the most effective virulence factors of *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis.

Keywords: Gastric carcinogenesis; *Helicobacter pylori*; virulence factors.

Giriş

Helicobacter pylori dünya popülasyonunun yarısını enfekte eden, insan midesinde kolonize olan ve karsinogenezde etkinliği saptanmış üreaz, katalaz ve oksidaz pozitif, 2-4 µm uzunluğunda, kamçıli, hafif kıvrık, gram negatif bir bakteridir (1,2). Tek rezervuarı insandır, insandan insana bulaş fekal-oral, oral-oral veya iatrojenik yolla olmaktadır (1). Önce gastrite neden olan bakteri tedavi edilmeme sonucunda peptik ülser, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve hatta gastrik kansere varan patolojilere yol açar. Enfekte bireylerin yaklaşık %10'u peptik ülser hastalığı, %1-3'ü gastrik adenokarsinom ve <%0,1'inde mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması gelişir (1,2). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu duodenum ülserlerinin yaklaşık %95'i ve mide ülserlerinin %85'inden sorumludur. Enfekte bireylerin %80'i ise gastrik mukozada kronik inflamatuvar yanıt oluşturmakta ve klinik semptomlar göstermemektedir (3).

Mide kanseri dünyanın en yaygın 5. kanser türüdür, kansere bağlı ölümlerin dördüncü nedenidir (2). Mide kanseri riskini 2,2-21 kat arttırabilmektedir (4). *Helicobacter pylori* kaynaklı gastrik kanser pariyetal hücre kaybı, hücre farklılaşması, kimyasal mediatörler, serbest radikaller, prostaglandinler, büyüme faktörleri ve matriks metalloproteinazların yer aldığı genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu meydana gelmektedir (5,6). Proinflamatuvar sitokinler nötrofiller için güçlü kemotaktik etkiyle nötrofillerin de granülasyonunu uyarır ve *Helicobacter pylori*'nin neden olduğu doku hasarının artmasına yol açar. İnterlökin (IL)-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) da inflamasyonda rol alır. T hücreleri genellikle *Helicobacter pylori*'nin başlattığı aktif gastriti iletirken, T-regülatör (Treg) hücrelerinin T hücre yanıtını kontrol ederek, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (7).

Günümüze dek bakteriye ilişkin birçok virülans faktörü tanımlanmıştır ve bulundurduğu virülans faktörüne göre suşların hastalık yapabilme potansiyelleri değişmektedir (1,6). Sitotoksin ilişkili gen A (CagA), *Helicobacter pylori* suşlarının %50-70'inde bulunur ve bakteri virülansının en önemli ögesidir (3). CagA proteini, virülans belirleyicisi Tip IV sekresyon sistemi (T4SS) ile bakterilerden konakçı hücrelerinin sitoplazmasına yer değiştirebilir. Şırınga benzeri bir yapı oluşturan T4SS, epitel hücrelerinden proinflamatuvar sitokin salınımını indükleyebilir. Tirozin fosforilasyonuna uğramış CagA suşları mukoza hücrelerinde büyüme faktörü benzeri etkiyle proliferasyona yol açabilir (8). Ayrıca *Helicobacter pylori* enfeksiyonu sırasında yer değiştiren CagA, fosforilasyondan bağımsız bir şekilde E-cadherin/β-katenin kompleksini destabilize eder ve epitel hücrelerinin polaritesini koruyan PAR1/MARK kinaz etkileşim yoluyla polarite kusurlarına neden olur (9). Tüm bu değişiklikler *Helicobacter pylori*'nin kolonizasyonunu da kolaylaştırır (3). Bakterinin epitel hücrelerini etkilemesi için Cag patojenite adası (Cag PAI) şarttır. Çünkü bu yapı T4SS'i kodlayarak efektör moleküllerin konakçı hücrelere iletilmesini sağlar (10). Ayrıca T4SS, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon

alanı içeren protein 1 (NOD1) aktivasyonu ve proinflamatuvar gen ekspresyonuna yol açar. *Helicobacter pylori*'nin nükleer faktör-kappa B (NF-κB)'yi aktive ederek kimyasal mediatörlerin salgılanmasını tetikleyen ve T hücrelerinin apoptozunu indükleyen Cag PAI pozitif suşları peptik ülser ve mide kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (11-14).

Helicobacter pylori suşlarının yarısında, bakteri hücre içine girdiğinde endojen yolla apoptozu indükleyen, asit sekresyonunun azalmasına ve böylece mide kanseri gelişimine zemin hazırlayabilen "Vakuolatör sitotoksin A (VacA)" bulunmaktadır (15,16). VacA granülosit, monosit, B ve T hücreleri gibi birçok inflamatuvar hücreyle etkileşime girebilir (17). Kan grubu antijen bağlayıcı adezin (BabA) aynı zamanda dış membran proteini (OMP) üyesidir (18). Bakterilerin mide mukozasında eksprese edilen Lewisb (Leb) ve kan grubu O, A ve B antijenlerine bağlanmasına aracılık eden BabA peptik ülser ve mide adenokarsinomu ile ilişkilidir (6,19,20). Sialik asit bağlayıcı adezin (SabA) eritrosit yüzeyinde bulunan sialillenmiş yapılara bağlanan bir hemaglutinindir. *Helicobacter pylori*'nin mide epitel hücrelerindeki sialiyeye olan Lex'e tutunmasında görevlidir. Gastrik karsinom oluşumunda kronik inflamasyondaki bu sialillenmenin önemli olabileceği düşünülmektedir (14,15). SabA üreten suşlar kolonizasyon, artan mide kanseri, atrofi ve bağırsak metaplazisi riskini artırırken duodenal ülserasyon riskini azaltır (19). Dış zar inflamatuvar proteini (OipA), Hop H geni tarafından kodlanan bir hücre yüzeyi proteindir ve yapışma işlevi görür. OipA ekspresyonu duodenum ülseri ve mide kanseri ile bağlantılıdır (12). Proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve IL-8'i uyararak inflamatuvar yanıtta rol alır (21). Konak kolonizasyonunda yer alsada inflamasyon üzerindeki rolü belirsizdir (13). Adezyon ilişkili lipoprotein (AlpA/AlpB), *Helicobacter pylori* adezyonunda yer alan OMP kodlayan iki güçlü homolog gendir. Hücresel adhezyonda, konakçı hücre sinyalleşmesinde ve sitokin üretiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca fonksiyonu tam belirlenememiş *Helicobacter* dış membran proteini (HopZ) de bir adezyon proteindir (6,14).

Duodenal ülser destekleyen gen A (DupA), VirB4 faktörü ile yüksek homolojisinden dolayı muhtemelen vir genleriyle birlikte bir T4SS oluşturur ve epitel hücrelerinden artan IL-8 üretimi ile ilişkilendirilmiştir (12,15). *Helicobacter pylori* nötrofil aktive edici protein (HP-NAP), nötrofilleri uyararak reaktif oksijen ara ürünlerini üretmesine, Ca²⁺ ve sitozolik sinyal moleküllerini serbest bırakmasına ve nötrofillerin yüzeyindeki β2 integrinler'in eksprese edilmesine neden olur. Nötrofilleri aktive eder, ROS'u indükler, IL-6, IL-12 ve IL-23 üretimi için makrofajları uyarır. Kolonizasyondaki rolü bilinmemektedir (12). High temperature requirement A (HtrA); serin proteaz aktivitesi olan, *Helicobacter pylori*'nin oldukça yakın zamanda tanımlanmış virülans faktörlerinden biridir. HtrA'nın substratlardan biri de bir adezyon molekülü olan E-cadherin'dir. High temperature requirement A, epitel hücre bağlantılarını keser ve *Helicobacter pylori*'nin hücreler arası alana girmesine izin verir. Salınan E-cadherin ektodomainsi

gastrik kanserde anahtar bir prognostik indikatördür (6). Üreaz enzimi, ürenin amonyak ve bikarbonata hidrolizine yol açarak midenin asidik pH'ını tamponlar ve bu yolla bakteri kolonizasyonuna yardımcı olur (6). İki ana allelik varyantı olduğu bilinen "epitel ile temas yoluyla indüklenen gen (İceA)" genotipi, artırılmış IL-8 ekspresyonu ve akut antral inflamasyon ile bağlantılı bulunmuştur. İceA2 varyantının işlevi belirsizliğini korumaktadır (22). *Helicobacter pylori* flagellasının ucunda bulunan flaA ve flaB yapıları bakteri adezyonu veya viskoz mukus tabakasında ilerlemesine yardımcı olabilir, kolonizasyonda yer almaz (10).

Bu çalışmada, dahil edilme kriterlerini karşılayan 14 çalışma irdelenerek, *Helicobacter pylori*'nin virülans faktörlerinin karsinogenezdeki etkileri açısından karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu yolla, *Helicobacter pylori* pozitif bulunan hastalarda özellikle hangi virülans faktörlerinin daha fazla kanser gelişim riski taşıdığı belirlenmeye ve bu hastaların saptanıp *Helicobacter pylori* eradikasyonu açısından tedavi edilmelerinin önemi vurgulanmaya çalışılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın evrenini Ocak-Aralık 2022 tarihinde "Pubmed", "Medline", "Dergipark" veri tabanları ile "Google Scholar" ve "Networked Digital Library of Theses and Dissertations" tez kaynaklarından taranarak ulaşılan 48 makale oluşturmuştur. İncelemede "*Helicobacter pylori*", "gastrik karsinogenez" ve "virülans faktörler" anahtar kelimeleri kullanılarak veri tabanları taranmıştır.

Elektronik tarama ile saptanan tüm makalelerin başlık ve özetleri araştırmacı tarafından incelenmiştir. Çalışmaların yazarları, yıl, başlık, özet, gereç yöntem ve örnekleme çalışmanın dahil olma kriterlerine uyup uymadığının araştırılması için tam metinleri incelenmiştir.

Çalışmalarda ortak kriterler bulunmadığından virülans faktörlerinin etkisine örnek gösterilebilecek 14 ayrı çalışma incelenmiştir.

Makalelerin seçiminde kullanılan kriterler ve işlem basamakları şöyle özetlenebilir:

Araştırma Dahil Edilme Kriterleri:

- Helicobacter pylori* için karsinogenezde etkili faktörlere ilişkin randomize kontrollü orijinal araştırmalar.
- Çalışmanın tam metnine ulaşılabilmesi.
- Yayın dilinin Türkçe ya da İngilizce olması.
- 1997- 2022 tarihleri arasında yayınlamış olması.

Araştırma Dışlama Kriterleri:

- Olgu sunumları.
- Karsinogenezde etkili virülans faktörlerini kapsamayan araştırmalar.
- Sistemik derlemeler içerisinde incelenen çalışmalar kapsam dışı bırakılmıştır.

İşlem Basamakları:

"*Helicobacter pylori*", "gastrik karsinogenez" ve "virülans faktörler" anahtar kelimeler ile "Pubmed", "EBSCO", "Med-LINE" ve "SCOPUS" elektronik veri tabanları tarandı.

Çalışmalar listelendi ve dahil edilme kriterlerine göre incelendi. Dahil edilme kriterlerini karşılayan 14 makale sınırlılık ve sonuçlar açısından değerlendirildi.

Bulgular

Helicobacter pylori'nin gastrik karsinogenezde etkili olduğu düşünülen virülans faktörlerinin değerlendirilmesine ilişkin literatürde kriterleri karşılayan 14 makale incelenmiştir. Ancak literatürde karsinogenezde etkili *Helicobacter pylori* virülans faktörlerinden tümünü irdeleyen makale yoktur. Bu nedenle seçilen 14 makalenin ortak paydası "karsinogenezde etkili virülans faktörleri" genel başlığı altında irdelenmiştir. Çalışmalarda incelenen karsinogenezde etkili virülans faktörleri ve etkileri, sorumlu yazar, basım yılı ve çalışma başlığı ile birlikte Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. 1997- 2022 yılları arasında yayınlanan sistematik derleme kapsamındaki çalışmaların yazarları, başlığı, basım yılı, yöntemleri ve sonuçları

	ÇALIŞMANIN YAZARLARI/ YILI/ BAŞLIĞI	YÖNTEM	SONUÇLAR
1	Rudi et al. (1998) Diversity of <i>Helicobacter pylori</i> VacA and CagA genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production and associated diseases.	<i>Helicobacter pylori</i> pozitif 65 hastadan izole edilen bakteriler ve CagA pozitif ve negatif iki referans <i>Helicobacter pylori</i> suşu CagA ve vacA gen farklılıkları ve sitotoksin ile ilişkileri açısından araştırıldı.	Bu çalışmada sitotoksin üretiminin temel olarak CagA geninden değil VacA geninden kaynaklandığına dair kanıtlar desteklenmiştir.
2	Yamaoka et al. (2000) A Mr 34,000 proinflammatory outer membrane protein (OipA) of <i>Helicobacter pylori</i> .	Bu çalışmada 80 Japon hastadan elde edilen OipA, 160 klinik izolat mide kanseri hücre hattı ile kültürlendi. IL-8 üretimi ELISA ile test edildi.	OipA geni içeren Cag negatif suşlar, Cag pozitif suşlardan 3 kat daha fazla IL-8 üretmiştir ve IL-8 seviyeleri ve karsinogenez arasında ilişki saptanmıştır.
3	Takashima et al. (2001) Effects of <i>Helicobacter pylori</i> infection on gastric acid secretion and serum gastrin levels in Mongolian gerbils.	Altı haftalık erkek Moğol gerbilleri ağızdan <i>Helicobacter pylori</i> ile aşılandı. İnokülasyondan önce ve 6, 12 hafta sonra serum gastrin seviyeleri, gastrik asit çıkışı ve IL-1β mRNA seviyelerine bakıldı.	<i>Helicobacter pylori</i> 'nin serum gastrin düzeylerini ve inflamasyon skorlarını önemli ölçüde arttırdığı, gastrik asit salınımını azalttığı görülmüştür. Ayrıca mide mukozasındaki IL-1β mRNA seviyesini yükseltmiştir.
4	Kimm et al. (2002) <i>Helicobacter pylori</i> impairs DNA mismatch repair in gastric epithelial cells.	Mide kanseri hücre hatları, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> veya <i>Escherichia coli</i> ile birlikte kültürlendi. MutS ve MutL MMR protein ve RNA seviyeleri incelendi.	<i>Helicobacter pylori</i> ile uyarılan bu genlerin haberci RNA seviyelerinde azalma görülmüştür. Kronik enfeksiyon, mutasyon birikimine ve kanser riskini artıran MMR kaybına yol açmıştır.
5	Chan et al. (2003) Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with infection and in gastric cancer.	Dispeptik hastaların 35 mide biyopsisi <i>Helicobacter pylori</i> açısından histoloji ve üreaz nefes testi ile tarandı. Rezeksiyon uygulanan kanserli hastaların normal ve tümörlü dokularında E-cadherin araştırıldı.	<i>Helicobacter pylori</i> pozitif hastalarda artmış E-cadherin metilasyon oranı saptanmıştır. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin E-cadherin metilasyonu için önemli bir faktör olduğu iddia edilmiştir.
6	Crabtree et al. (2004) <i>Helicobacter pylori</i> induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype.	Çalışmada <i>Helicobacter pylori</i> 'nin NCTC 11637, G50, BA142, D931, ve G104 suşları kullanıldı. Bu suşlarda PCR ile CagA geninin varlığı ve western blotlama ile VacA proteinini belirlendi.	CagA pozitif D931 suşu sitotoksik bulunmamışken vacA ve IL-8 varlığı sitotoksik bulunmuştur. Artmış IL-8 ekspresyonunun ülsere neden olabileceği ileri sürülmüştür.

7	Ushijima et al. (2006) DNA methylation as a marker for the past and future.	Toplam 22 <i>H. pylori</i> pozitif hasta ve sağlıklı bireyden alınan biyopsi örneklerinden elde edilen 48 gendeki CpG adalarının promotör bölgelerindeki metilasyon incelendi.	<i>Helicobacter pylori</i> pozitif grupta yaygın metilasyon saptanmıştır. <i>H. pylori</i> enfeksiyonu olmayan mide kanserli bireylerde mide mukozasındaki metilasyon oranı, olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur.
8	Yamaoka et al. (2006) <i>Helicobacter pylori</i> outer membrane proteins and gastroduodenal disease.	200 hastadan alınan örnekle <i>Helicobacter pylori</i> kültürü yapıldı. Sonuçlar düşük geçiş sayılı tek kolonilerden alınan kültürler kullanılarak elde edildi.	OipA pozitifliği duodenal ülser, mide kanseri, bakteri ve nötrofil yoğunluğu ile; SabA pozitifliği ise mide kanseri, bağırsak metaplazisi ve korpus atrofisi ile pozitif ilişkilidir. Mide asiditesi, duodenal ülser ve nötrofil infiltrasyonu SabA pozitif olanlarda azalmaktadır.
9	Beswick et al. (2006) The <i>Helicobacter pylori</i> urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF-kappa B activation and IL-8 production.	N87 insan mide kanseri hücreleri, Hs738.st/int insan fetal epitel hücreleri ve P3HR1, RPMI 1640'ta tutuldu. Üreazın CD74'e nasıl bağlandığını belirlemek için rekombinant üreaz A ve B alt birimleri kullanıldı.	Üreazın mide epitel hücreleri tarafından IL-6 ve TNF- α üretimini indüklediği, Cag PAI ve OipA'nın IL-6 seviyelerini arttırdığı saptanmıştır. Tek başına üreaz B alt biriminin mide epitel hücrelerinde NF-KB ve IL-8 üretiminin aktivasyonunu indüklediği görülmüştür.
10	Rhead et al. (2007) A new <i>Helicobacter pylori</i> vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer.	Rutin endoskopi yapılan 73 İran'lı hastadan alınan <i>Helicobacter H. pylori</i> izolatlarının VacA i bölgesi tipleri, nükleotid dizilimi PCR ile belirlendi.	<i>Helicobacter pylori</i> 'nin VacA i1 tipi suşlarının mide adenokarsinomuyla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu görülmüştür.
11	Malfertheiner et al. (2018) Efficacy, immunogenicity, and safety of a parenteral vaccine against <i>H. pylori</i> in healthy volunteers challenged with a Cag (+) strain: a randomized, placebo-controlled phase 1/2 study.	Randomize faz 1/2, tek merkezli çalışmada, 18-40 yaşları arasında, <i>Helicobacter pylori</i> negatif sağlıklı bireylerle yapıldı. 0, 1 ve 2 ayda üç intramüsküler aşıdan 1 ay sonra CagA pozitif <i>Helicobacter pylori</i> suşu verildi ve 12 hafta sonra aşının etkinliği ölçüldü.	Bu çalışmada Cag pozitif virülans faktörü üzerine etkinliği araştırılan bir aşının <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonuna karşı korumadığı görülmüştür.
12	Jeyamani et al. (2018) CagA and VacA genes of <i>Helicobacter pylori</i> and their clinical relevance.	165 hastadan alınan mide biyopsisinde <i>Helicobacter pylori</i> 'nin CagA ve VacA (s1, s2, m1, m2) genleri araştırıldı.	VacA s1 ve CagA pozitif suş baskın genotip olup, VacA s1 suşlarıyla enfekte hastalar ülser geliştirmeye daha yatkındır.
13	Soudi et al. (2021) Evaluation of <i>Helicobacter pylori</i> OipA protein as a vaccine candidate and propolis as an adjuvant in C57BL/6 mice.	Rekombinant saflaştırılmış oipA ve propolis aşılı C57BL/6 farelerine uygulandı. Sonrasında PCR ile IFN- γ ve IL-4 genleri araştırıldı.	OipA proteininin IFN- γ üretimini artırdığı doğrulanmıştır.
14	Xue et al. (2021) Geographic distribution of the CagA, VacA, IceA, OipA and DupA genes of <i>Helicobacter pylori</i> strains isolated in China.	Çin'in 5 bölgesinde farklı yakınmaları olan 348 hastadan mide biyopsi örnekleri alınıp, PCR ile CagA, VacA, IceA, OipA ve DupA genotipleri araştırıldı.	İncelenen virülans faktörlerinde CagA pozitifliği baskındır. VacA, OipA ve DupA tipleri bölgeler arasında farklılık göstermiştir. Ancak genotip ve klinik seyir arasında ilişki bulunamamıştır.

Tartışma

Dünya genelinde en yaygın enfeksiyon hastalıklarından biri olan *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, aynı zamanda insan kanserleriyle ilişkisi saptanan ilk bakteridir. Dünya nüfusunun neredeyse yarısını enfekte eden ve insan midesine yerleşen bu bakteri, mide bulantısı, ağız kokusu ve dispepsi gibi semptomlara yol açabileceği gibi semptom göstermeden de kolonize olabilir (1,12). *Helicobacter pylori* ile ilişkili hastalıklar arasında gastrit, duodenal ve gastrik ülser, distal gastrik adenokarsinom ve primer gastrik lenfoma yer almaktadır. *Helicobacter pylori*'nin gastrit ile ilişkisi ilk kez 1982'de tanımlanmıştır (1). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu olan bireylerde mide kanseri gelişme riskinin %1-2 olduğu bildirilmiştir (3). Sadece antrumda kolonize olabildiği saptanan *Helicobacter pylori* midenin asidik ortamına karşı üreaz enzimi yardımıyla amonyak üreterek mide pH'ını artırıp, aside karşı koruma mekanizması oluşturarak karsinogenezde etkili olabilmektedir. Üreaz sadece mide pH'ının bakterinin yaşayabileceği kadar yükseltilmesi ile değil aynı zaman da bir transkripsiyon faktörü olan NF-KB'nin aktivasyonu ve IL-8 salınımının uyarımıyla da karsinogenezde de etkilidir (3,10,16). Ancak üreaz aktivitesi de dahil pek çok virülans faktörü suşlar arasında farklılık göstermektedir (21, 22). Beswick ve ark.

üreazın mide epitel hücreleri tarafından IL-6 ve TNF- α üretimini indüklediğini bildirmişlerdir (23). Tek başına üreaz B alt birimi, mide epitel hücrelerinde CD74'e bağlanmanın ardından NF-KB ve IL-8 üretimini indüklemektedir. Cag PAI ve OipA, gastrik epitel hücreleri tarafından IL-6 salgılanmasındaki rolleri açısından incelendiğinde, her iki virülans faktörünün, MKN-28 gastrik epitel hücreleri tarafından farklı yollardan IL-6 üretim seviyelerini arttırdığı görülmüştür (23).

Crabtree ve ark. mide epitel hücrelerinde *Helicobacter pylori* kaynaklı IL-8 ekspresyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada interlökin-8 ekspresyonunun artışı CagA pozitif fenotip ile ilişkilendirmişlerdir (24). Ayrıca VacA ve IL-8 ekspresyonu sitotoksik bulunmuştur. Artmış IL-8 ekspresyonunun *Helicobacter pylori* kaynaklı ülsere neden olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Soudi ve ark. yaptıkları çalışmada OipA'nın IFN-y üretimini arttırdığını bildirmişlerdir (25). Yamaoka ve ark. OipA pozitifliğinin yüksek oranda duodenal ülser ve mide kanseri riskiyle, şiddetli nötrofil infiltrasyonu ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (26). OipA, mide kanseri riskini de arttıran bir faktördür. Aynı çalışmada *Helicobacter pylori* virülans faktörü SabA, mide kanseri, bağırsak metaplazisi ve korpus atrofisi ile ilişkili bulunmuştur ve karsinogenezde etkili risk faktörü sayılmıştır. SabA duodenal ülser ve nötrofil infiltrasyonu ile negatif olarak ilişkilidir. SabA pozitifliğinin ayrıca midenin asit salgılama yeteneğini azalttığı görülmüştür. BabA2 geninin ise IL-8 üretimi üzerinde önemli bir etkisi yoktur. Yapılan bu çalışmada Japon ve ABD suşları karşılaştırılmıştır ve Japon OipA

göre daha karsinojenik etkili olduğu görülmüştür. *Helicobacter pylori* virülans faktörü olan Cag negatif suşlarının, Cag'dan 3 kat daha fazla IL-8 ürettiği görülmüştür. OipA geninin, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun önemli bir virülans faktörü olabileceği anlaşılmıştır. IL-8 salgılanması kullanılan hücre hatlarına göre farklılık gösterse de, IL-8 seviyeleri ile karsinogenez arasında önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur (27).

Jeyamani ve ark. *Helicobacter pylori* enfeksiyon prevalansını %37 bulmuşlar ve VacA s1, CagA pozitif suşun baskın genotip olduğunu bildirmişlerdir (28). VacA s1'in önemli bir virülans belirteci olduğunu ve s1 suşlarını barındıran hastaların ülser geliştirmeye daha yatkın olduğu görülmüştür. CagA için s2 suşu, s1 suşuna göre daha sitotoksik bulunmuştur. Benzer bir şekilde Rudi ve ark. çalışmalarında vacA s1 suşunun s2 suşuna göre daha fazla bulunduğunu bildirmişlerdir (29). VacA tip s1, peptik ülserasyon oluşumu ve CagA, sitotoksin aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Tüm izolatların yaklaşık %74'ü CagA pozitifdir. Peptik ülser hastalarının, *Helicobacter pylori* suşlarının çoğu CagA pozitif bulunmuştur. Çalışmada ayrıca sitotoksin üretiminin VacA geniyle ilişkili olduğu, CagA geninden kaynaklanmadığına dair önceki kanıtlar desteklenmiştir (29). Rhead ve ark. VacA i bölgesi üzerine yaptıkları çalışmada VacA i bölgesi, i1 tipi suşların mide adenokarsinomuyla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (30). Malfetheiner ve ark.

Cag pozitif suşla enfekte edilen sağlıklı gönüllüler üzerine yaptıkları çalışmada, *Helicobacter pylori*'ye karşı parenteral bir aşının etkinliğini araştırmışlar ve bu aşının *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna karşı korumadığını saptamışlardır (31).

Helicobacter pylori enfeksiyon oluşturduğu zaman konakçıda DNA hasarına ve çeşitli mutasyonlara yol açabilmektedir (32). *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun mide epitel hücrelerinde, mutasyon birikimi riskini ve kronik *Helicobacter pylori* enfeksiyonu sırasında mide kanseri riskini arttırabilecek DNA yanlış eşleşme tamiri (MMR) genleri fonksiyonlarında eksikliğe yol açabilecek potansiyeli olduğu görülmüştür. Ayrıca DNA metilasyonu üzerine yapılan çalışmalarda *Helicobacter pylori* pozitif olan grupta yaygın olarak metilasyon meydana geldiği belirlenmiştir (33). Aktif *Helicobacter pylori* enfeksiyonu olmayan bireyler arasında, mide kanserli bireylerde mide mukozasındaki metilasyon seviyeleri, olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde E-cadherin metilasyonunun *Helicobacter pylori* için risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Chan ve ark. çalışmalarında *Helicobacter pylori* pozitif hastaların %53'ünde E-cadherin metilasyonu saptamışlardır (32). *Helicobacter pylori* negatif olan hastaların %94'ünde E-cadherin metilasyonu negatiftir. Bu bulgu, *Helicobacter pylori*'nin E-cadherin metilasyonu için önemli olduğunu doğrulamıştır.

Takashima ve ark. çalışmalarında, *Helicobacter pylori* ile aşılamadan altı ve 12 hafta sonra serum gastrin

düzeylerive inflamasyon skorlarının önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Mide mukozasındaki IL-1beta mRNA seviyesinin de yükseldiği görülmüştür (34). Xue ve ark. Çin'de izole edilen *Helicobacter pylori* suşlarının CagA, VacA, OipA, DupA, İceA genlerinin coğrafi dağılımlarıyla ilgili yaptıkları araştırmada *Helicobacter pylori* virülans faktörlerinin araştırıldığı her 5 coğrafik bölge içinde CagA pozitifliğini baskın bulmuşlardır (35). Diğer bölgeler arasında baskın suşlar değişiklik göstermiştir. Sonuç olarak *Helicobacter pylori* virülans faktörlerinden üreaz'ın midedeki asidik ortama karşı direnç sağlayarak, CagA ve CagPAI'nın, T4SS molekülü ile hücreye taşınarak, VacA'nın T hücre proliferasyonunu ve efektör fonksiyonları baskılayarak, OipA'nın proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu uyararak, SabA'nın nötrofillerin aktive ederek karsinogenezde etkili virülans faktörleri oldukları saptanmıştır (23-35).

Yazarların herhangi bir çıkar çatışması yoktur. Çalışmada hiçbir hibe veya destek kullanılmamıştır. Tüm yazarlar çalışmanın tüm aşamalarında katkıda bulduklarını beyan etmişler ve makalenin son halini onaylamışlardır. Yazarlar bu çalışmanın başka bir dergide yayınlanmadığını, sunulmadığını ve başka bir derginin incelemesinde olmadığını beyan ederler.

Kaynaklar

- 1.1.Kipritçi Z. *Helicobacter pylori*'nin virülans faktörleri ve ilaç dirençlerinin moleküler yöntemlerle araştırılması. İstanbul; Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2016.
- 2.Oral D, Yirün A, Erkekoğlu P. *Helicobacter pylori*'nin neden olduğu epigenetik ve genetik değişiklikler ve gastrik karsinogenez gelişiminde roller. J Fac Pharm. 2019;43: 285-308.
- 3.Kusters JG, Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19:449-90.
- 4.Ushijima T, Nakajima T, Maekita T. DNA methylation as a marker for the past and future. J Gastroenterol. 2006;41:401-7.
- 5.Maekita T, Nakazawa K, Mihara M, Nakajima T, Yanaoka K, Iguchi M, et al. High levels of aberrant DNA methylation in *Helicobacter pylori* infected gastric mucosae and its possible association with gastric cancer risk. Clin Cancer Res. 2006;12:989-95.
- 6.Alzahrani S, Lina TT, Gonzalez J, Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cells. World J Gastroenterol. 2014;20:12767-80.
- 7.Pinto-Santini D, Salama NR. The biology of *Helicobacter pylori* infection, a major risk factor for gastric adenocarcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;14:1853-8.
- 8.Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. Science. 2002;29:683-6.
- 9.Horridge DN, Begley AA, Kim J, Aravindan N, Fan K, Forsyth MN. 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. PathogDis. 2017;75:113.
- 10.Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL. *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. 30 Ocak 2022 tarihinde, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21290711/> adresinden erişildi.
- 11.Backert S, Clyne M, Tegtmeyer N. Molecular mechanisms of gastric epithelial cell adhesion and injection of cagA by *Helicobacter pylori*. Cell Commun Signal. 2011;9:1-11.
- 12.White JR, Winter JA, Robinson K. Differential inflammatory response to *Helicobacter pylori* infection: etiology and clinical outcomes. J Inflamm Res. 2015;13:137-47.
- 13.Güvenir M, Yılmaz Ö. *Helicobacter pylori* sinyal yollarının dünyası. Türk Mikrobiol Cem Derg. 2009;39:115-21.
- 14.Kuck D, Kolmerer B, Konert CI, Krammer PH, Stremmel W, Rudi J. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* induces apoptosis in the human gastric epithelial cell line AGS. Infect Immun. 2001;69:5080-7.
- 15.Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93:14648-53.
- 16.Furuta Y, Yahara K, Hatakeyama M, Kobayashi I. Evolution of cagA oncogene of *Helicobacter pylori* through recombination. Plos One. 2011;6:e23499.
- 17.Fitchen N, Letley DP, O'Shea P, Atherton JT, Williams P, Hardie KR. All subtypes of the cytotoxin VacA adsorb to the surface of *Helicobacter pylori* post-secretion. J Med Microbiol. 2005;54:621-30.
- 18.Kudo T, Nurgalieva ZZ, Conner ME, Crawford S, Odenbreit S, Haas R, et al. Correlation between *Helicobacter pylori* oipA protein expression and oipA gene switch status. J Clin Microbiol. 2004;42:2279-81.
- 19.Wroblewski LE, Peek JRM, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. Clin Microbiol Rev 2010; 23:713-9.
- 20.Nardone G, Compare D, Colibus P, Nucci G, Rocco A. *Helicobacter pylori* and epigenetic mechanisms underlying gastric carcinogenesis. Dig Dis. 2007;25:225-9.

- 21.Hoy B, Löwer M, Weydig C, Carra G, Tegtmeyer N, Geppert T, et al. *Helicobacter pylori* HtrA is a new secreted virulence factor that cleaves E-cadherin into disrupt intercellular adhesion. *Empo Reb.* 2010;11:798-804.
- 22.Oleastro M, Ménard A. The Role of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins in adherence and pathogenesis. *Biology.* 2013;2:1110-34.
- 23.Beswick EJ, Pinchuk IV, Minch K, Suarez G, Sierra JC, Yamaoka Y, et al. The *Helicobacter pylori* urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF-kappa B activation and interleukin-8 production. *Infect Immun.* 2006;74: 1148-55.
- 24.Crabtree JE, Wyatt JI, Trejdosiewicz LK, Peichl P, Nichols PH, Ramsay N, et al. Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol.* 1994;47:61-6.
- 25.Soudi H, Falsafi T, Mahboubi M, Gharavi S. Evaluation of *Helicobacter pylori* oipA protein as a vaccine candidate and propolis as an adjuvant in C57BL/6 mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2021;24:1220-30.
- 26.Yamaoka K, Kwon DK, Graham DH. A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:7533-8.
- 27.Baldwin DN, Shepherd B, Kraemer P, Hall MK, Sycuro LK, Pinto-Santini DM, et al. Identification of *Helicobacter pylori* genes that contribute to stomach colonization. *Infect Immun.* 2007;75:1005-16.
- 28.Jeyamani L, Jayarajan J, Leelakrishnan V, Swaminathan M. CagA and VacA genes of *Helicobacter pylori* and their clinical relevance. *Indian J Pathol Microbiol.* 2018;61: 66-9.
- 29.Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle PR, et al. Diversity of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes and relationship to vacA and cagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. *J Clin Microbiol.* 1998;36:944-8.
- 30.Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Hosseini ME, et al. New *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology.* 2007;133:926-36.
- 31.Malfertheiner P, Selgrad M, Wex T, Romi B, Borgogni E, Spensieri F, et al. Efficacy, immunogenicity, and safety of a parenteral vaccine against *Helicobacter pylori* in healthy volunteers challenged with a Cag-positive strain: a randomised, placebo-controlled phase 1/2 study. *Clinical Trial.* 2018;3:698-707.
- 32.Chan AO, Lam SK, Wong BC, Wong WM, Yuen MF, Yeung YH, et al. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with *Helicobacter pylori* infection and in gastric cancer. *Gut.* 2003;52:502-6.
- 33.Kim JJ, Tao H, Carloni E, Leung WK, Graham DY, Sepulveda AR. *Helicobacter pylori* impairs DNA mismatch repair in gastric epithelial cells. *Gastroenterology.* 2002; 123:542-53.
- 34.Takashima M, Furuta T, Hanai H, Sugimura H, Kaneko E. Effects of *Helicobacter pylori* infection on gastric acid secretion and serum gastrin levels in Mongolian gerbils. *Gut.* 2001;48:765-73.
- 35.Xue Z, Yang H, Su D, Song X, Deng X, Yu C, et al. Geographic distribution of the cagA, vacA, iceA, oipA and dupA genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in China. *Gut Pathog.* 2021;13:39.