

HELICOBACTER KOLONİZASYON ŞEKİLLERİ İLE MİDEDE OLUŞAN MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. Nusret AKPOLAT*, Dr. Fatma Hüsniye DİLEK*, Dr. Kürşat TÜRKDOĞAN**

ÖZET: *Helicobacter pylori* (HP) pozitif olan 105 olguya ait 197 endoskopik mide biyopsi materyeli, Hematoksilen Eozin ve Giemsa boyaları ile boyanarak HP varlığı ve kolonizasyon şekilleri belirlendi. Morfolojik bulgular (mikroerozyon, apikal mûsin kaybı, nötrofil infiltrasyonu, lenfoid follikül oluşumu ve gastrit) ile *Helicobacter pylori* kolonizasyon şekilleri (serbest, adezyon ve interselüler) arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. HP kolonizasyon şekilleri ile HP yoğunluğu, mikroerozyon, nötrofil infiltrasyonu, apikal mûsin kaybı, lenfoid follikül oluşumu ve gastrit türleri (kronik gastrit hariç) arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı ($p < 0.05-0.001$) bir ilişki olduğu saptandı.

ANAHTAR KELİMELE: *Helicobacter pylori*, kolonizasyon şekilleri, morfolojik değişiklikler

SUMMARY: RELATIONSHIP BETWEEN GASTRIC *HELICOBACTER* COLONISATION MODES AND MORPHOLOGIC ALTERATIONS: A total 197 gastric biopsies colonized by *Helicobacter pylori* (HP) like organisms were stained with hematoxylin-eosin and giemsa and studied under light microscopy for the modes bacterial colonization (free in mucus, surface-adhesion and intercellular colonization). Biopsies were also examined and graded for the degree of epithelial damage (apical mucus depletion, microerosion), density of HP like organisms and lymphoid follicles were identified and counted in mucosa. A strong significant positive association was noted between mode of colonization and gastric epithelial damage, density of HP, lymphoid aggregates.

KEY WORDS: *Helicobacter pylori*, mode of colonization, morphological changes.

GİRİŞ

HP'nin mide epitelini direkt olarak hasara uğratmadığını ileri sürülmüşse de (1-3) bu gün HP kolonizasyonunun inflamasyona ek olarak epitel hasarı yaptığı yaygın olarak kabul edilmektedir (4-8). Ultrastrüktürel çalışmalarda organizmaların yüzey epitel ile sıkı ilişki halinde oldukları ve enteropatik bakterilerde olduğu gibi epitel tabanına kadar ilerledikleri saptanmıştır (9,10).

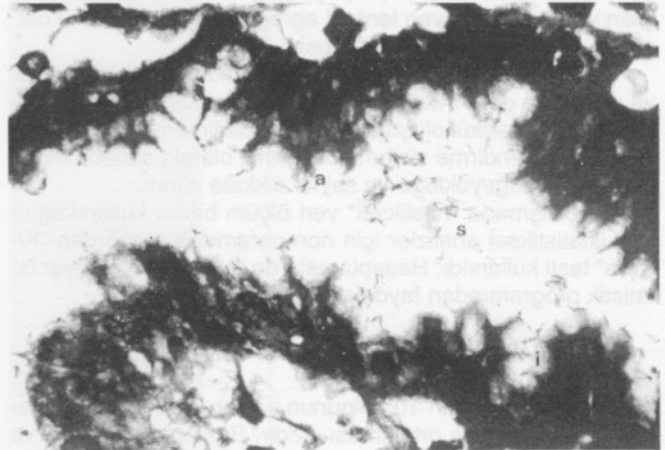
HP'nin hücre arasında veya hücre içinde yerleştiği daha önce yapılan ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik çalışmalarda tanımlanmış, ancak bunun patolojik anlamı bütünüyle izah edilememiştir (11-16). Chan ve ark. çalışmalarında, HP kolonizasyon şekli ile bakteri yoğunluğu ve epitel hasarı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (17).

GEREÇ VE YÖNTEM

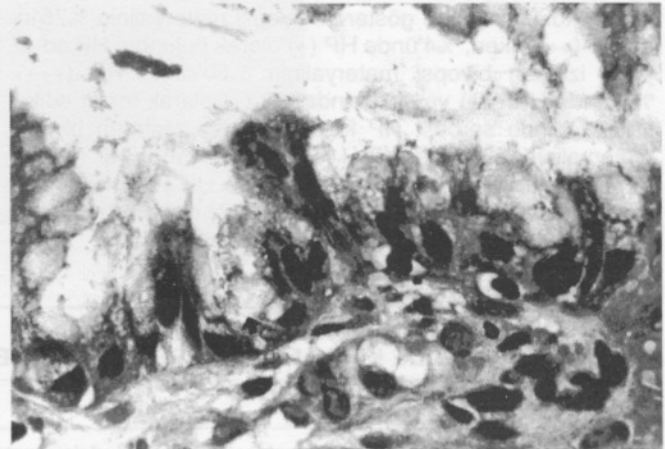
Çalışmaya HP kolonizasyonu gösteren 105 olguya ait 197 biyopsi örneği alındı. Mide endoskopik biyopsi örnekleri, %10'luk tamponlu formalin ile fikse edilerek, rutin doku takip işlemlerinden geçirilip, parafine gömülerek, beş mikronluk kesitler alındı. Hematoksilen Eozin (HE) ve "modifiye Giemsa" boyama metotları ile boyanarak ışık mikroskobu ile HP varlığı ve kolonizasyon şekli araştırıldı.

HP kolonizasyonu, Chan ve ark.'nın tanımladıkları şekilde, HP'nin epitel hücreleri ile ilişkisi olmadan mukus tabakası içinde serbest halde bulunması, epitel hücrelerinin yüzeyine tutunması (adezyon) ve hücre aralığına girmesi (interselüler) şeklinde üç alt gruba ayrılarak incelendi (Resim 1) (17). Kolonizasyon şekillerini belirlemede, Giemsa boyası esas alındı.

Mide mukoza yüzeyinde normalde bulunan mukus tabakasının incilmesi ve/veya tamamen ortadan kalkması ve bunun bir sonucu olarak gelişen yüzeyel düzensizlikleri, apikal mûsin kaybı ve yüzey düzensizliği olarak; mukozal yüzeydeki herhangi bir nedene bağlı tek veya birkaç hücre kaybı mik-



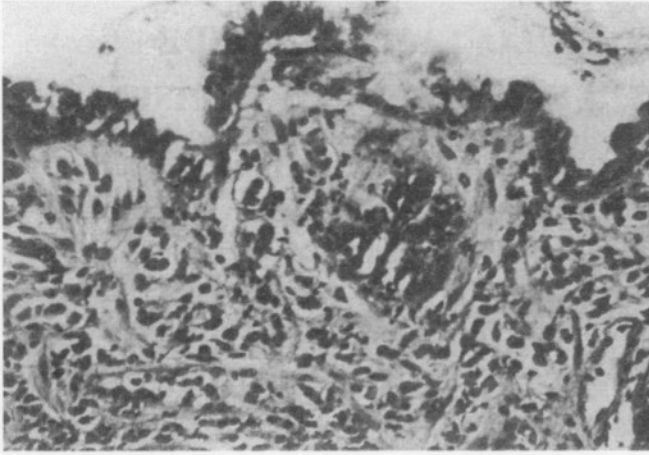
Resim 1. HP kolonizasyon şekillerinin üçü bir arada görülmektedir. Genellikle interselüler aralıkta (i) ve mukus içinde serbest (s) halde izlenen bakterilerin yer yer glandüler epitale adezyon (a) gösterdikleri izlenmektedir (Giemsa x1000).



Resim 2. Foveolar glandüler epitelde yaygın interselüler HP kolonizasyonu, mikroerozyon (ok), yüzey düzensizliği ve apikal mûsin kaybı izlenmektedir (H-E x1000).

* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, VAN

** Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı, VAN



Resim 3. HP'e bağlı mide yüzey epitelinde düzensizlik, yaygın apikal mürsün kaybı, nötrofil infiltrasyonu, kript absesi oluşumu (ok) ve yer yer mikroerozyon izlenmektedir (H-E x400).

roerozyon olarak değerlendirildi. Yüzey ve/veya glandüler epiteler nötrofil infiltrasyonu aktiflik kriteri olarak, glandüler yapılarında üç ve üzeri nötrofil infiltrasyonu ise kript apsesi olarak kabul edildi. Lamina propriyada germinal merkezleri seçilen veya seçilemeyen lenfoid agregatlar lenfoid follikül oluşumu olarak değerlendirildi (Resim 2,3).

Yukarıda incelenen morfolojik parametreler nitelik ve/veya niceliğine göre Tablo 1'de görüldüğü şekilde derecelendirildi. Lenfoid follikül oluşumu değerlendirilirken aşağıda anlatılan derecelendirme sisteminden farklı olarak, sadece lenfoid follikül varlığı/yokluğu ve sayısı dikkate alındı.

Bu çalışmada "niteliksel" veri ölçüm biçimi kullanıldığından istatistiksel analizler için non-parametrik testlerden "Ki-Kare" testi kullanıldı. Hesaplamalarda "Minitab" bilgisayar istatistik programından faydalandı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 105 olgunun yaşları 4-77 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 42'dir. Bunların 58'i erkek ve 47'si kadındır. Olguların 1'epsi semptomatik olup, endoskopik incelemede 6 olguda gastrik ülser ve 19 olguda duodenal ülser saptandı.

Biyopsilerin %49'unda interselüler, %32'sinde adezyon ve %19'unda serbest HP kolonizasyonu saptandı. Interselüler HP kolonizasyonu gösteren biyopsi materyalinin %75'inde HP (+++) iken, %4'ünde HP (+) olarak bulundu. HP adezyonu izlenen biyopsi materyalinin %50'sinde HP (+++), %28'inde HP (++) ve %22'sinde HP (+) olarak tespit edildi. Mukus içinde serbest HP kolonizasyonu gösteren biyopsi materyalinin %8.5'inde HP (+++) iken, %51'inde HP (+) olarak bulundu. HP kolonizasyon tipleri ile HP yoğunluğu arasında izlenen doğru orantının istatistiksel olarak da oldukça anlamlı ($p < 0.001$) olduğu görüldü (Tablo 2).

TABLO 1. İNCELENEN MORFOLOJİK PARAMETRELERDE KULLANILAN DERECELENDİRME SİSTEMİ

Derece	Anlamı
(-)	İncelenen parametre yok veya normal morfoloji saptanmakta
(+)	Hafif şiddette/miktarda bir pozitifliği
(++)	Orta şiddette/miktarda bir pozitifliği
(+++)	Ağır şiddette/miktarda bir pozitifliği

Aktif kronik gastrit tanısı konan biyopsilerin %69'unda interselüler, %24'ünde adezyon ve %7'sinde serbest HP kolonizasyonu tespit edildi. Kronik gastrit tanısı alan biyopsilerin %52'sinde adezyon, %34'ünde serbest ve %14'ünde interselüler HP kolonizasyonu görüldü (Tablo 2).

Süperfisyal gastritli biyopsilerin %36'sında serbest, %36'sında adezyon ve %28'inde interselüler HP kolonizasyonu belirlendi. Kayda değer morfolojik değişiklik saptanmayan biyopsi örneklerinin %67'sinde adezyon ve %33'ünde serbest HP kolonizasyonu tespit edildi. Bu grupta hiç interselüler kolonizasyona rastlanmadı (Tablo 2).

HP kolonizasyon şekilleri ile aktif kronik gastrit ($p < 0.001$), süperfisyal gastrit ($p < 0.05$) ve kronik atrofik gastrit ($p < 0.01$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görüldü. Ancak kronik gastrit ile HP kolonizasyon şekilleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p > 0.05$).

Mikroerozyon tespit edilen biyopsi örneklerinin %72'sinde interselüler, %17'sinde adezyon ve %11'inde serbest mukus içinde olduğu izlendi. Apikal mürsün kaybı ve yüzey düzensizliği gösteren biyopsi örneklerinin %64'ünde interselüler, %23'ünde adezyon ve %13'ünde serbest HP kolonizasyonu izlendi (Tablo 2).

Nötrofil infiltrasyonu ve kript apsesi oluşumu izlenen biyopsi materyelinin %67'sinde interselüler, %25'inde adezyon, %8'inde ise serbest HP kolonizasyonu görüldü. Lenfoid follikül oluşumu izlenen biyopsi örneklerinin %15'inde serbest, %24'ünde adezyon ve %61'inde interselüler HP kolonizasyonu tespit edildi (Tablo 2).

HP kolonizasyon tipleri ile mikroerozyon, apikal mürsün kaybı ve nötrofil infiltrasyonu arasında istatistiksel olarak ($p < 0.001$) güçlü bir ilişki olduğu izlendi. Lenfoid follikül oluşumu ile kolonizasyon tipleri arasında anlamlı ($p < 0.05$) bir ilişki saptanmakla beraber diğeri kadar güçlü olmadığı saptandı.

TARTIŞMA

HP ile ilgili yapılan ilk çalışmaların büyük bir çoğunluğu, HP'nin varlığı ve yokluğu ile morfolojik ve klinik parametreler arasındaki ilişkiler temeli üzerine kurulmuştur. Ancak bu çalışmalar, midede oluşan morfolojik değişikliklerin hepsini açıklamada ve nükslerin oluşumunu izah etmede yetersiz kalmıştır. İlk kez 1986 yılında Hazell ve ark. HP'nin mukus içinde ve interselüler aralıkta olmak üzere iki farklı lokalizasyonda yerleştiğini ve interselüler yerleşimin bakterinin temel etki mekanizmasını oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir (16). Daha sonra 1990 yılında Wyle ve ark. HP'nin yüzey epiteline sıkıca tutunduğunu, epiteler invaze olduğunu ve intraselüler yerleştiğini, aynı şekilde parietal hücreler ve esas hücrelere de girdiklerini saptamışlardır. İntraselüler yerleşim HP'lerin sağlam kaldığını, ancak intraselüler yerleşmeyen bakterilerin dejenere olduğunu ve gastrik mukozal hasarın hücre invazyonu sonucu gerçekleştiğini ve reküransların bu intraselüler yerleşen mikroorganizmalar ile oluştuğunu belirtmişlerdir (12).

Hassey ve ark. HP'nin yüzey epiteline adezyon gösterdiğini, bunun HP gastritinin patogenezi oluşturabileceğini ve epitel hasarı, mukus kaybı, akut ve kronik iltihabi hücre infiltrasyonu meydana getirdiğini ileri sürmüşlerdir (10). Chan ve ark. ise, HP kolonizasyonunu daha sistematik hale getirerek, mukus içinde serbest halde, yüzey epiteline tutunma (adezyon) ve interselüler

TABLO 2. HP KOLONİZASYON ŞEKİLLERİ İLE ÇEŞİTLİ PARAMETRELERİN İLİŞKİSİ

	n	Serbest	Adezyon	İnterselüler	p
Aktif kronik gastrit (%)	112	8 (7)	27 (24)	77 (69)	p<0.001
Süperfisiel gastrit (%)	39	14 (36)	14 (36)	11 (28)	p<0.05
Kronik gastrit (%)	21	7 (34)	11 (52)	3 (14)	p>0.05
Kronik atrofik gastrit (%)	10	3 (30)	2 (20)	5 (50)	p<0.01
Normal (%)	15	5 (33)	10 (67)	0 (0)	
HP yoğunluğu					p<0.001
+	37	19 (51)	14 (38)	4 (11)	
++	53	15 (28)	18 (34)	20 (38)	
+++	107	3 (3)	32 (30)	72 (67)	
Mikroerozyon					p < 0.001
-	95	26 (27)	46 (49)	23 (24)	
+	102	11 (11)	18 (17)	73 (72)	
Apikal münin kaybı					p < 0.001
-	60	20 (33)	32 (53)	8 (13)	
+	137	17 (13)	32 (23)	88 (64)	
Nötrofil infiltrasyonu					p < 0.001
-	62	26 (42)	30 (48)	6 (10)	
+	135	11 (8)	34 (25)	90 (67)	
Lenfoid follikül					p < 0.05
-	131	27 (20)	48 (37)	56 (43)	
+	66	10 (15)	16 (24)	40 (61)	

ler/intraselüler invazyon şeklinde üç gruba ayırmışlardır. Bu araştırmacılar, HP yoğunluğu ve epitel hasarı ile adezyon arasında bir ilişki olmadığını ancak interselüler kolonizasyon ile direkt bir ilişki gösterdiğini saptamışlardır. Tedaviden sonra bakterinin sayıca azalması veya ortadan kaybolmasıyla, morfolojik değişikliklerin de bariz bir şekilde gerilemesi HP kolonizasyonu ile morfolojik değişiklikler arasında direkt bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (17).

Bu çalışmamızda, HP yoğunluğu ile kolonizasyon şekilleri arasında sıkı bir ilişki olduğu görüldü. HP yoğunluğu arttıkça interselüler kolonizasyonun daha sık gözlemlendiği ve daha fazla doku hasarı ve iltihabi hücre reaksiyonu ile birliktelik gösterdiği izlendi. Bulgularımız literatür ile uyumluk göstermektedir (17).

HP kolonizasyon şekilleri ile aktif kronik gastrit, HP yoğunluğu, nötrofil infiltrasyonu, apikal münin kaybı ve mikroerozyon, süperfisiel gastrit, kronik atrofik gastrit ve lenfoid follikül oluşumu ile de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görüldü. Ancak kronik gastrit ile kolonizasyon şekilleri arasında böyle bir ilişki saptanamadı.

Hansing ve ark., HP varlığı ile apikal mukus kaybı, epitelde dejenerasyon ve rejenerasyon arasında korelasyonun en yüksek olduğunu ve HP varlığını en iyi gösteren ve en spesifik olan inflamatuvar bulgunun "PMN varlığı" olduğunu belirtmektedirler (18).

Hui ve ark., apikal münin kaybı, epitelyal pitlerin oluşumu ve mikroerozyonun HP negatif olgularda izlenmediğini ve sadece HP pozitif olgulara spesifik olduğunu belirtmektedirler. Yüzey düzensizliği, inflamasyon tipi ve nötrofil infiltrasyonu gibi kriterlerin HP gastriti dışında bir çok durumda da görüldüğünü izlemişlerdir. Ayrıca HP varlığında, midede kayda değer morfolojik değişiklik görülmeyebileceği belirtilmektedir (8).

Bu çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak, nötrofil infiltrasyonu ve kript apsisi oluşumunun %95 oranında HP varlığı ile birliktelik gösterdiği ve HP yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu izlendi. HP varlığı ve derecesi ile nötrofil infiltrasyonu arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki olduğu saptandı. "Nötrofil infiltrasyonu ve kript apsisi oluşumunun", HP varlığını gösteren en önemli morfolojik kriter ol-

duğu sonucuna varıldı. Aktif kronik gastritli ve süperfisiel gastritli olgular ile HP varlığı ve derecesi arasında da %90-95'e varan bir birliktelik dikkati çekmektedir. Bu bulgular literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir (18,19).

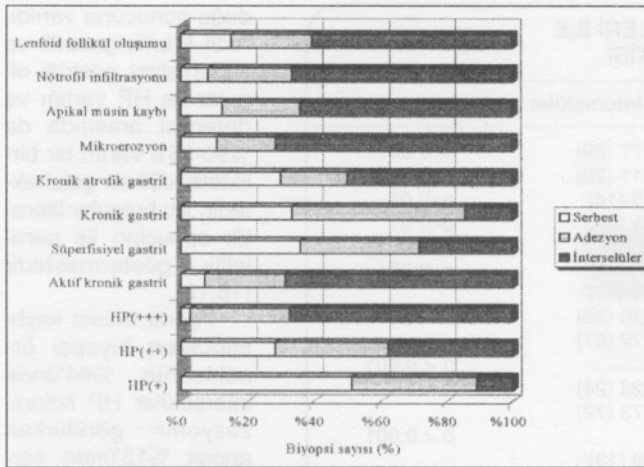
Apikal münin kaybı saptanan biyopsi örneklerinin %64'ünde interselüler HP kolonizasyonu görülürken ancak %13'ünde serbest HP kolonizasyonu saptanması, interselüler kolonizasyon ile apikal münin kaybı arasında doğru orantı olduğunu göstermektedir. Mikroerozyonun HP varlığını gösterme-

de, nötrofil infiltrasyonu ve apikal münin kaybı kadar değerli morfolojik bir kriter olduğu ve HP'e spesifik olduğu belirtilmektedir (8). Bu çalışmamızda "mikroerozyon" saptanan biyopsi örneklerinin %92'sinde HP varlığı saptandı. Mikroerozyon ile HP yoğunluğu ve kolonizasyon şekli arasında doğru orantılı olduğu ve istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki olduğu görüldü.

Lenfoid folliküllerin normal midede bulunmadığına inanılır (19,20). Normal gastrik mukoza çok az sayıda T lenfosit içerirken hemen hemen hiç B lenfosit içermez (21). Lenfoid folliküllerin varlığının daha çok aktif kronik antral gastritli hastalarda ve hemen daima HP enfeksiyonu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (19). Gastrik lenfomaların mide mukozasındaki lenfoid folliküllerden geliştiği ve bunda HP'nin tetikleyici bir rol üstlendiği öne sürülmektedir. Bundan dolayı lenfoid follikül oluşumu ve HP ile olan ilişkisi daha da önem kazanmaktadır.

Lenfoid follikül oluşumu (LFO) her iki cinsde eşit dağılıp yaşla herhangi bir ilişki göstermemekle beraber, yaşlılarda gençlere oranla daha sık görüldüğüne inanılmaktadır (19,21). LFO, en sık antrumun küçük kurvatur bölgesinde görülmektedir. LFO, HP gastritine ait spektrumun bir parçası olduğu ve HP yoğunluğu, inflamatuvar infiltrasyonun derecesi ve aktivitesi arasında güçlü bir korelasyon bulunduğu belirtilmektedir (21). Oluşan lenfoid folliküllerin çapları değişmekle beraber, vakaların çoğunda lamina propriyanın kalınlığının 1/2'sini aşmaz. Ancak seyrek de olsa bazen bütün lamina propriayı kaplayabilir ve o zaman da lenfomadan ayrımı zor olabilir (19).

Literatürde HP ve LFO ile ilgili bildirilen değerler %62 ile %100 arasında değişmektedir (19,21). Bu kadar farklı sonuçların elde edilmesinin nedeni olarak, doku örneklerinden yeterince kesit alınmaması gösterilmekte ve biyopsi örneklerinin yaklaşık 1/3'ünde ilk 4-5 kesitte lenfoid follikül görülmeyen, daha sonraki seri kesitlerde ortaya çıktığı belirtilmektedir (19). Bizim çalışmamızda da kesit sayısı ile lenfoid follikül varlığını tespit etme arasında doğru orantı olduğu ve bir kesitte görülmeyen lenfoid follikülün bir başka kesitte oldukça belirginleştiği görüldü. Lenfoid folliküllerin daha sağlıklı tespit edilmesi ve görülme oranını arttırmak için seri kesit almanın zorunlu olduğu sonucuna varıldı.



Şekil 1. HP kolonizasyon şekillerinin çeşitli parametreleri ile ilişkisi

KAYNAKLAR

- Bonvicini F, Versura P, Pretolani S, Gasbarrini G, Laschi R. Scanning electron microscopy in the study Campylobacter pylori associated gastritis. Scanning Microsc 1989; 3: 355-368.
- Thomsen LL, Gavin JB, Tasman-Jones C. Relation of Helicobacter pylori to the human gastric mucosa in chronic gastritis of the antrum. Gut 1990; 31: 1230-1236.
- Kalogeropoulos NK, Whitehead R. Campylobacter-like organisms and candida in peptic ulcers and similar lesions of the upper gastro-intestinal tract: a study of 247 cases. J Clin Pathol 1988; 41: 1093-1098.
- Wyatt JI. Gastritis and its relation to gastric carcinogenesis. Semin Diag Pathol 1991; 8: 137-148.
- Chan WY, Hui PK, Chan JKC. Epithelial damage by Helicobacter pylori in gastric ulcers. Histopathology 1991; 19: 47-53.
- Dixon MF. Helicobacter pylori and peptic ulceration: Histopathological aspects. J Gastroenterol Hepatol 1991; 6: 125-130.
- Fiocca R, Villani L, De Giacomini C. Morphological evidence of Campylobacter pylori pathogenicity in chronic gastritis and peptic ulcer. Acta Gastroenterol Belg 1989; 52: 324-335.
- Hui PK, Chan WY, Cheung PS, Chan JKC and Chi S. Pathologic changes of gastric mucosa colonized by Helicobacter pylori. Hum Pathol 1992; 23: 548-556.
- Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. Campylobacter pyloridis gastritis and peptic ulceration. J Clin Pathol 1986; 39: 353-356.
- Hessey SJ, Spencer J, Wyatt JI. Bacterial adhesion and disease activity in Helicobacter associated chronic gastritis. Gut 1990; 31: 134-138.
- Kazi JL, Sinniah R, Zaman V. Ultrastructural study of Helicobacter pylori associated gastritis. J Pathol 1990; 161: 65-70.
- Wyle FA, Tarnawski A, Schulman D, Dabros W. Evidence for gastric mucosal cell invasion by C. Pylori: an ultrastructural study. J Clin Gastroenterol 1990 (suppl. 1): 12: 92-98.
- Malfetheimer P, Bode G, Stanescu A, Ditschuneit H. Gastric metaplasia and Campylobacter pylori in duodenal disease: an ultrastructural analysis. Gastroenterol Clin Biol 1989; 13: 71-74.
- Chen XG, Corea P, Offerhouse J. Ultrastructure of gastric mucosa harboring Campylobacter-like organism. Am J Clin Pathol 1986; 86: 575-582.
- Camilleri JP, Tricottet V, Bloch F. Campylobacter pylori infection. A morphological approach. Med Mal Infect 1989; 19: 79-83.
- Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. Campylobacter pyloridis and gastritis; association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factor in colonization of the gastric epithelium. J Infect Dis 1986; 153: 658-663.
- Chan WY, Hui PK, Leung KM, and Thomas TMM. Modes of Helicobacter colonization and gastric epithelial damage. Histopathology 1992; 21: 521-528.
- Hansing RN, D'Amico H, Levy M and Guillan RA. Prediction of Helicobacter pylori in gastric specimens by inflammatory and morphological histological evaluation. Am J Gastroenterol 1992; 87: 1125-1131.
- Genta M. R, Hammer H. W. and Graham D.Y. Gastric lymphoid follicles in helicobacter pylori infection: frequency, distribution, and response to tripe therapy. Hum Pathol 1993; 24: 577-583.
- Asaka M, Kimura T, Kato M, Kudo M, Miki K, Ogoshi K, Kato T, Tatsuta M, Graham DY. Possible role of Helicobacter pylori infection in early gastric cancer development. Cancer 1994; 73: 2691-4.
- Eidt S, Stolte M. Prevalence of lymphoid follicles and aggregates in Helicobacter pylori gastritis in antral and body mucosa. J Clin Pathol 1993; 46: 832-835.