

## **Helikobakter pylori (+) kronik aktif gastritli ve duodenal ülserli hastalarda MHC I klas reseptör ekspresyonu\***

MHC class I reseptör expression in the patients with *helicobacter pylori* (+) chronic active gastritis and duodenal ulcer disease

Zeygam SÜLEYMANOV<sup>1</sup>, A. HİDAYETOV<sup>1</sup>, Sedef ÖZDAL KURAN<sup>3</sup>, Ali ÖZDEN<sup>2</sup>, Burhan ŞAHİN<sup>3</sup>

Azerbaycan Tıp Üniversitesi<sup>1</sup>, Bakü

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji BD.<sup>3</sup>, Ankara

**Giriş ve amaç:** *Helikobakter pylori* midenin antrumunda, mukus altındaki epitel hücre yüzeyinde kolonize olarak kronik aktif gastrit ve duodenal ülser oluşumundaki rolü ispatlanmıştır. Bununla birlikte, organizmanın bütünlüğü ve dokunulmazlığını korumakla görevli olan immün sistemin bu bakterilere ve duodenumda oluşan doku hasarına vermiş olduğu yanıt hakkında bildiklerimiz azdır. Çalışmamızın amacı, duodenum ülserli hastaların periferik venöz kanındaki immün hücrelerde MHC I klas reseptör ekspresyonunu incelemektir. **Gereç ve yöntem:** Toplam 124 olgu (ilk kez saptanan ve hiç bir tedavi görmeyen, *H.pylori* +, 47 küçük (<6 mm) duodenal ülser, 56 orta (6-12 mm) duodenal ülser olan hasta ve 21 sağlıklı kişi) çalışma kapsamına alınmıştır. DAKO Dual Color Reagent tatbik edilerek periferik venöz kanda CD3, CD4, CD3/4, CD8, CD3/8, CD16/56 ve CD3/16/56 reseptörlerini taşıyan immün hücreler ve non-spesifik reaktivite göstergileri araştırıldı. **Bulgular:** Ölçüsüne bağlı olmayarak her iki hasta grubunda da periferik venöz kanda non-spesifik reaktivite göstergileri sağlıklı gruptan farklı değildi. MHC I klas antijen reseptörü taşıyıcılarından yalnız CD3/16/56 üçlü reseptör ekspresyon eden daha agresif NK hücrelerin her iki hasta grubunda da kontrole göre belirgin olarak arttığı ( $p<0.005$ ) saptandı. Bu artış ülserin ölçüsüne bağımlılık gösterdi. **Sonuç:** *Helicobakter pylori* (+), kronik antral gastriti ve duodenal ülseri olan hastalarda CD3/16/56 üçlü reseptör ekspresyon eden hücrelerin sayısındaki artış bu hastalıkta otoimmün olayların olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** *Helikobakter pylori*, duodenal ülser, MHC I klas reseptör ekspresyonu

**Background and aims:** The role of *Helicobacter pylori* in the chronic active gastritis and duodenal ulcer development by colonizing the epithelial surface under the mucus of the antrum is proven. But our knowledge about the immune response to *H. pylori* and tissue injury due to the bacteria is limited. The aim of this study is to evaluate the MHC class I receptor expression in the peripheral venous blood of the patients with duodenal ulcer. **Materials and methods:** One hundred and twenty-four patients having *H. Pylori* without any treatment before [47 of them having small sized duodenal ulcers (<6mm); 56 having medium sized duodenal ulcers (6-12mm) and 21 of them are healthy controls] were included in to the study. The peripheral blood of patients were evaluated for immune cells expressing CD3, CD4, CD3/4, CD8, CD3/8, CD16/56, CD3/16/56 receptors and non-specific reactivity markers by DAKO Dual Color Reagent. **Results:** Non-specific reactivity markers between patient groups and healthy controls did not show difference. The number of triple CD3/16/56 receptor expressing cells which were more aggressive NK cells were found higher in patient groups than the control ( $p<0.005$ ). Significance found related with ulcer size. **Conclusion:** The higher number of triple CD3/16/56 receptor expressing cells could show tendency to autoimmunity in patients having chronic antral gastritis and duodenal ulcers with *H. Pylori*.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, the MHC class I receptor expression

### **GİRİŞ VE AMAÇ**

Mide mukozası immün hücrelerden yoksun olmasına rağmen (1), kan dolaşımını temin eden damar ağına sahip olduğu için gerektiğinde yeterli hücre konsantrasyonu sağlayabilme özelliğine sahiptir (2). *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) bakterileri oral yoldan alındıktan sonra mide mukoza epitelinin yüzeyinde kolonize olarak doku hasarının oluşumuna ortam hazırlar (3). Fakat bu ortamı, burada daha çok rastlanan polimorfonükleer lökositlere ve sonradan sayıca artmış olan CD4 ve

CD8 reseptörleri taşıyan T lenfositlere (1, 4-6) rağmen nasıl yapabildikleri sorusunun tam cevabı halen bulunamamıştır. Bakterinin savunma amacıyla geliştirdiği uyum mekanizmalarından olan süperoksid dismutaz ve katalazın ikisinin birlikte fagositoza uğramış *H.pylori*'nin nötrofilin fagositik vakuolünde yok edilmesini önlediği görüşü (7) de kusursuz değildir. Mide biyopsilerinde *H.pylori*'yi fagositoza uğratmış nötrofil ve monositlerin sayısı pek fazla değildir. Demek ki, bu

\*Çalışma TÜBİTAK ve TGD desteği ile gerçekleştirilmiştir.

bakterilerin gerek non-spesifik savunma mekanizmalarından, gerek immün sisteminden korunabilmesinin farklı nedenleri olabilir. Probleme açıklık getirmek amacıyla; *H.pylori*'ye ve onun oluşturduğu ortama cevap olarak mukozaya göç etmiş hücrelerin kaynağı olan kandaki non-spesifik reaktivite hücrelerini ve MHC I klas antigen reseptörlerini eksprese eden immün hücreleri araştırdık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1994-Şubat 1997 tarihleri arasında Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji kliniğinde endoskopik muayene yapılmış dispeptik şikayetleri olan 2500 şahıs arasından seçilmiş hastalarda, ilk kez saptanan ve hiçbir tedavi görmeyen *H.pylori* pozitif, kronik antral gastriti ve duodenal ülseri olan 103 hasta ve 21 sağlıklı kişi çalışmaya alındı. *H.pylori*'nin pozitifliği üreaz testine ve histolojik olarak, kronik antral gastritis ve DÜ ise hem endoskopik hem de histolojik olarak doğrulanmıştı. Hastalar seçilirken non-spesifik reaktiviteyi ve immün sistemi etkileyebilecek herhangi bir ek patolojik durumun olmamasına özen gösterildi. Mukozal doku hasarının ölçüsü 6mm'den az olan vakalar küçük ülser (KÜ), 6-12mm arasında olanlar ise orta ülser (OÜ) grubuna dahil edildi. Periferik venöz kanda lökositlerin, nötrofillerin, lenfositlerin ve monositlerin mutlak sayısı ve DAKO Dual Color Reagent (Denmark) tatbik edilerek MHC I klas antigen reseptörlerini eksprese eden CD3, CD4, CD3/4, CD8, CD3/8, CD16/56 ve CD3/16/56 hücrelerin mutlak sayısı ( $n \times 10^9/L$ ) araştırıldı. İstatistiki işlemlerde Microsoft Excel 2000 programında student's t testi kullanılarak yapıldı. Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi.  $p < 0.05$  olan değerleri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Kontrol ve hasta gruplarında yaş-cinsiyet ve non-spesifik reaktivite verileri birbirine benzerdi ( $p>0.05$ ). Çalışmaya 71 erkek ve 32 kadın hasta alınmıştı. Toplam erkek/kadın oranı 2.2:1 olduğu halde KÜ grubunda bu rakam 1.76:1, OÜ grubunda ise 2.73:1 olarak izlendi. Periferik venöz kanda OÜ grubunda diğer iki gruba göre lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayısında hafif bir artış saptandı. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). KÜ grubundaki aynı bulgular ise kontrol grubuna daha yakındı (Tablo 1).

**Tablo 1.** Kontrol ve çalışma gruplarının karakteristiği ve non-spesifik reaktivite bilgileri (hücre sayısı  $\times 10^9/L$ )

Parametreler	Çalışma grupları		
	Kontrol grubu	Küçük ülser	Orta ülser
Yaş (yıl)	39.9±7.0	39.6±9.8	38.2±6.9
Dağılım	26-63	24-62	27-56
Cinsiyet E/K	9/12	30/17	41/15
Lökositler	6.88±1.01	6.87±1.09	7.15±1.19
Nötrofiller	4.048±0.7	3.895±0.793	4.883±0.747
Lenfositler	2.103±0.353	2.081±0.05	2.305±0.057
Monositler	0.514±0.096	0.537±0.115	0.631±0.171

Tümü için  $p > 0.05$

Periferik venöz kan hücrelerinde MHC I klas antigen reseptörlerinin ekspresyonunu gösteren Tablo 2'de CD3 hücrelerinin sayısında kontrol ile karşılaştırıldıklarında, ülser ölçülerine bağlı olan bir artış bulundu. Çünkü KÜ grubunda bu hücrelerin sayısı kontrole göre fazla, OÜ grubunda ise hem kontrole hem de KÜ grubuna göre daha fazladır. Benzer bir eğilim CD4, CD3/4 ve CD3/8 parametrelerinde de ortaya çıkmaktadır. CD8 ve CD16/56 parametreleri ise her üç grupta da çok benzerdi. MHC I klas antigen reseptörü eksprese eden hücrelerden ise yalnız CD3/16/56 agresifliği ile seçilen NK-ların sayısında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. OÜ grubu ile kontrol arasındaki fark ( $p<0.005$ ), KÜ ile kontrol arasındaki farktan ( $p<0.025$ ) daha belirgin idi. Bu parametrede OÜ ve KÜ grupları arasında da anlamlı fark saptandı ( $p<0.005$ ), yani CD3/16/56 sayısındaki artışın ülserin ölçüsü ile ilişkisi vardı.

## TARTIŞMA

Normal mide mukozasında organize lenfoid doku olmadığından bu bölgenin immün yapısı masumdur (1). Henüz aydınlatılmamış nedenlerden masumluğun üzerine bir de *H.pylori*'nin savunma mekanizmaları tarafından yeterince tanınmaması (7), eklenince bakterilerin mide mukozasına yerleşerek burada inflamasyona yol açması kolaylaşır. Mukozada bulunan *H.pylori* sayısı ile doku inflamasyonunun şiddeti arasında çok sıkı bir korelasyon mevcuttur (8). Bakteriler kemotaktik faktör sekresyonu aracılığı ile bölgeye monosit ve nötrofil migrasyonuna neden olur (4, 9). Bu hücrelerin periferik venöz kandaki sayısı bizim çalışmamızda OÜ grubunda, kontrole ve KÜ grubuna göre yüksek bulundu. Aradaki fark istatistik olarak anlamsız olsa da bu artış kemik iliginin *H.pylori*'nin kemotaktik faktörüne yanıt vermiş olduğunun işareti olabilir.

Sağlıklı erişkin insanlarda mukozanın her 100 epitel hücreğine denk gelen intraepitelial lenfositlerin dağılımı şöyledir: CD3-22, CD4-12, CD8-11 adet hücre (10). Bizim çalışmanın sonuçlarına göre mukozadaki hücre sayısında yukarıda görülen 2:1:1 oranı periferik venöz kanda da görülmektedir (Tablo 2). Mide mukozasında organize lenfoid doku olmadığına göre, *H. pylori* bakterilerine bağlı buradaki hücre sayısındaki her hangi bir değişiklik şüphesizki, periferik kan hücreleri ile alakalı olacaktır. Zaten *H. pylori* bakterilerinin et-

ğın neticesi olarak bu hücrelerin hedefle önceden tanışmasından sonra hayata geçirilebilir (11). Bulduğumuz sonuçlara göre immün sistemin esas temeli sanılan CD8-sitotoksik ve CD3/8-killer/süpressör hücrelerinin *H. pylori*'yi yabancı gibi değerlendirmekte bir sorunu vardır. CD16/56 markerli NK hücrelerinde de böyle bir problemin varlığını elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak söyleyebiliriz. Çünkü, her üç grupta da CD16/56 eksprese etmiş olan hücrelerin sayısı, aynı idi. Bir çok araştırmacılar bunu *H. pylori*'nin antijen yapılarının zayıflığı ile her ne kadar alakalandırılmış olsalar da, burada mutlaka bilinmeyen faktörler de vardır. Bunları MHC I klas ile MHC II klas antijen reseptörlerini eksprese eden hücreler arasındaki alakayı sağlayan mekanizmalarda aramak gerekmektedir.

**Tablo 2.** Periferik venöz kanda MHC I klas antijen reseptörleri ekspresyonu (hücre sayısı x 10<sup>9</sup>/L)

Parametreler	Çalışma grupları		
	KG n=21	KÜ n=42	OÜ n=42
CD3	1.392±0.302	1.619±0.29	1.768±0.361
CD4	0.788±0.134	0.808±0.165	1.060±0.189
CD3/4	0.774±0.137	0.860±0.138	0.944±0.279
CD8	0.828±0.154	0.842±0.199	0.894±0.235
CD3/8	0.590±0.109	0.642±0.18	0.764±0.158
CD16/56	0.547±0.107	0.594±0.149	0.595±0.126
CD3/16/56	0.062±0.01	0.111±0.028*	0.256±0.065**

\*kontrolle göre anlamlı ölçüde artmıştır (p < 0.025)

\*\*hem kontrolle hemde KÜ grubuna göre anlamlı ölçüde artmıştır (p < 0.005)

kisinden mukozada CD4 ve CD8 hücrelerin sayısı artmaktadır. CD4 daha ziyade lamina propria'da, CD8 ise epitelde yerleşir (1). Genelde T lenfositlerin yüzeyinde eksprese olan CD3 reseptörleri antijenle birleşerek hücrenin aktivasyonunu ve sitokinlerin sekresyonunu uyarır. CD4 ise T helperlerin MHC II klas antijen reseptörleri ile karşılaşmasını sağlar (11). Bu çalışmada CD3, CD4 ve CD3/4 eksprese etmiş olan hücrelerin periferik venöz kandaki sayısında her iki çalışma grubunda da kontrole göre ülser çapına bağlı olan, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptandı. Benzer bir tablo CD3/8-killer/süpressör hücrelerinde de izlendi. CD8-sitotoksik hücrelerin sayısı ise her üç grupta da birbirine çok yakındı. CD8 ve CD3/8 hücreleri organizmayı yabancı oluşumlardan koruma görevini üstlenmişlerdir. Ancak böyle bir fonksiyon, kazanılmış bağışıklı-

*H. pylori*'ye bağlı antral gastriti ve duodenal ülseri olan hastaların periferik venöz kanında MHC I klas antijen reseptörleri eksprese eden hücrelerden yalnız daha agresifliği ile seçilen üçlü CD3/16/56 işaretli NK hücrelerin olaylara seyirci kalmadığı saptandı. KÜ grubunda olanların sayısının kontrole göre 1.7 defa (p<0.025), OÜ grubunda ise 3.9 defa (p<0.005) artmış olduğu görüldü. Bu artış OÜ grubunda diğerlerine göre daha belirgin idi. CD3/16/56 hücreleri daha agresif olduğuna göre onlar farkına varmadan yabancı gibi değerlendirdiği kendi sahibine karşı reaksiyon gösterebilmektedirler. Bu hal onların bazı durumlarda epitel hasarında rol oynayabileceklerini düşündürür (2,12).

Sonuç olarak, periferik venöz kandaki non-spesifik reaktiflik göstercileri *H. pylori* infeksiyonuna, onun oluşturduğu antal gastritise, küçük ve orta ölçülü duodenal ülsera yanıt vermemektedir. Bu araştırmada MHC I klas antijen reseptörlerini eksprese eden hücrelerden yalnız CD3/16/56 gibi üçlü reseptör taşıyıcıları olan, daha agresifliği ile seçilen NK hücrelerin sayısının artmış olduğu saptanmıştır. Bu durum adı geçen hastalıkta otoimmün elementlerinin de prosese katılmış olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Özden A. İşte *Helicobacter pylori* Gastrit Peptik ülser. TGD yayını, 1995; 166 s.
- Ernst P. B. , Jin Y. , Reyes V. E. , et al. The role of the local immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation. *Scand. J Gastroenterology*, 1994; 29(suppl. 205): 22-28.
- Graham D. Y. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J of Gastroenterology and Hepatology*, 1991; 2: 105-113.
- Graig P. M. , Territo M. C. , Karnes W. E. ve ark. *Helicobacter pylori* secretes a chemotactic factor for monocytes and neutrophils. *GUT*, 1992; 33: 1020-1023.

## Peptik ülserde MHC I ekspresyonu

5. Wallase J. L. *Mucosal defense: new avenues for treatment of ulcer disease?* *Gastroenterology Clin. N. Am.* 1990; 19: 87-100.
6. Xiang Z. , Bugnoli M. , Rappuoli R. ve ark. *Helicobacter pylori: host responses in peptic ulceration.* *Lancet.* 1993; 341: 900-901.
7. Gitnick G. *Peptik Ülser Hastalığının Tanı ve Tedavisi.* Turgut Yayıncılık. 1997; 176 s.
8. Graham D. Y. , Klein P. D. *Campylobacter pyloridis gastritis: the past, the present, and speculations about the future.* *Am. J gastroenterol.* 1987; 82: 283-286.
9. Kurose İ. , Granger D. N. , Doyle J. , ve ark. *Helicobacter pylori-induced Microvascular Protein Leakage in Rats: Role of Neutrophils, Mast Cells, and Platelets.* *Gastroenterology.* 1994; 107: 70-79.
10. Nadine Cerf-Bensussan, Delphine Guy-Grand. *İntestinal İnterepithelial Lymphocytes.* *Gastroenterology Clin. N Am.* 1991; 3: V 21: 549-575.
11. Playfair J. H. L. *İmmunology at a Glance.* Blackwell Science, 1998; 95 s.
12. Ernst P. B. *Local immune and inflammatory responses following infection with H. Pylori: a role in peptic ulcer formation.* *Syllabus for Conference on Hp and GI Disorders; April 24-25, 1995, İBC, Philadelphia, Pa.*