

HELICOBACTER PYLORİ ENFEKSİYONUNUN KAN LÖKOSİTLERİNDE OLUŞTURDUĞU SAYISAL DEĞİŞİKLİKLER*

Berrin TELATAR¹, Oya Uygur BAYRAMİÇLİ², Didem KILIÇ³, Birsal KAVAKLI³, Ali YAYLA³

Helicobacter pylori enfeksiyonunun immün stimulan etkisi yanında immün supresif etkisinin de olduğu yönünde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tespit edilen kişilerde kandaki lökosit (nötrofil, lenfosit, monosit) sayısında belirgin azalma saptanmış ancak istatistiksel açıdan sadece bayanlardaki monosit sayısı değişikliğinin önemli olduğu görülmüştür. Çalışmamız enfeksiyonun immün supresif etkisini destekler yöndedir.

Anahtar sözcükler: Helicobacter pylori enfeksiyonu, Kan lökositlerindeki sayısal değişiklikler

THE CANTITATIVE CHANGES OF BLOOD LEUKOCYTES IN HELICOBACTER PYLORI INFECTION

There are a lot of studies reporting that Helicobacter pylori infection has immunosuppressive effect apart from immunostimulation. In our study it is shown that there is a definite decrease in blood leukocyte count (neutrophile, lymphocyte, monocyte) of people infected with Helicobacter pylori. But only change in monocyte count of women have statistical significance. Our study supports immunosuppressive effect of Helicobacter pylori infection.

Key words: Helicobacter pylori infection, Cantitative changes in blood leukocytes

Bazı spesifik inflamasyonlarda periferik kan lökosit dağılımında karakteristik değişiklikler mevcuttur. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) gastrik mukozada yıllarca sürecek olan kronik bir inflamasyona neden olmaktadır¹, bunun şiddeti değişkendir² ve içlerinde bakteriyel direnç ve konakçı cevabındaki^{3,4} değişiklikleri de içeren bilinmeyen faktörlere bağlıdır^{5,6}. Bu çalışmadaki amacımız bir sağlık kuruluşuna dispeptik şikayetlerle başvuran kişilerde ve sağlıklı kişilerde *H. pylori* enfeksiyonunun kan lökositlerinde oluşturduğu sayısal değişiklikleri saptamaktır. Lenfositler hariç kandaki tüm lökositler sadece kemik iliğinde gelişirler, lenfositler ise ayrıca dalak, timus ve lenf nodlarında da gelişmektedir. Lökositlerin asıl fonksiyonu "yabancı maddelere" karşı savunma olmakla beraber, her bir grubun, birbirinden farklı ve bağımsız fonksiyonları da vardır; bu yönden farklı ele alınmalıdır. Kandaki lökositler sık rastlanışlarına göre nötrofilik granülositler; bunu takiben lenfositler, monositler, eozinofilik granülositler ve bazofilik granülositlerdir. Lökosit fonksiyonları başlıca fagositoz ve immün cevaptır. İmmün cevap ise hücrenel ve humoral olarak iki alt grupta incelenmektedir. Esas fagositik hücreler nötrofiller, monositler ve eozinofillerdir. "İmmünosit" denilen hücreler ise lenfositler ve ondan gelişen plazma hücreleridir³.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye

* Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi ¹ Aile Hekimliği Bölümü

² İç Hastalıkları Bölümü, ³ Gastroenteroloji Bölümü, İstanbul

Polikliniğine Ekim 1996-1997 tarihleri arasında gastrointestinal sistem şikayetleri ile başvuran 73 hasta çalışmamızda vaka grubu (*Helicobacter pylori* pozitif semptomatik grup) olarak kabul edildi. Hastalara endoskopi, serolojik tetkik ve tam kan sayımı yapıldı; çalışmaya kabul edilen tüm kişiler yaş, cinsiyet ve sigara içme alışkanlığı yönünden sorgulandı. *H. pylori* pozitif olan 52 kişi vaka grubu, negatif olan 21 kişi ise kontrol grubu olarak alındı. Tam kan sayımını yaptırmayan 5 kişi nedeniyle istatistik hesapları 16 kişi üzerinden yapıldı. Serolojik tetkik için Orion Diagnostica firmasına ait serumda *H. pylori* antikorlarının hızlı tespitinde kullanılan ve lateks aglutinasyon yöntemi olan 'Pyloriset Dry' isimli kit, tam kan sayımı için otomatik "Coulter STKS Analyzer" kullanıldı. Bu cihazın çalışma ilkesi "Flow Cytometric" metoda dayanmaktadır. Endoskopik biyopsiler 12 saatlik açlığı takiben premedikasyonsuz %10'luk Xylocain sprej ile topikal farinks anestezisi yapılarak Olympus GIF X Q20 endoskop ile alındı. Endoskopi esnasında saptanan patolojiler gastrik ülser, duodenal ülser, gastrik ve duodenal ülser ve non ülser dispepsi olmak üzere dört ana grupta toplandı (Tablo I). Antrum ve prepilorik bölgeden ikişer adet biyopsi alındı ve biyopsi materyali %10'luk tamponlu formalin içinde tespit edilerek Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarına yollandı. Her inceleme sonrasında aletler su ile yıkayıp %2'lik glüteraldehit (Cidex; Johnson Medical, Vitroflay, France) solüsyonu içinde 20 dakika bekletilerek sterilize edildi. Histolojik inceleme için gönderilen örnekler parafin bloklarda kesitleri yapılarak önce Hematoksilin eozin ile daha sonra *H. pylori* negatif olanlar Giemsa ile boyandı. Oluşan lezyonun cinsi, bakteri pozitifliği, aktivite miktarı ve epitelial

değişikliklerin belirtilmesinde Sydney sınıflandırması esas alındı. Histopatolojik inceleme sonucunda H.pylori negatifliği saptanan 21 kişi kontrol grubu (Helicobacter pylori negatif semptomatik grup) olarak alındı. Tam kan sayımını yaptırmayan 6 kişi nedeniyle istatistiki hesaplar 15 kişi üzerinden yapıldı. Vaka ve kontrol grubu ile yakın yaşlarda ve sosyokültürel düzeyde olan, gastrointestinal ve diğer sistemlerle ilgili hiç bir şikayeti olmayan 50 kişi sağlıklı asemptomatik grup olarak seçildi. Endoskopi invaziv bir yöntem olduğundan bu gruba sadece seroloji uygulandı. Çalışmada böyle bir grup oluşturulmasındaki amaç asemptomatik olsa da H.pylori ile enfekte kişilerde aynı hematolojik tablonun oluşup oluşmadığının saptanması idi.

Serolojik testin uygulanması:

Testde lateks tanecikleri saflaştırılmış antijen karışımı ile duyarlı hale getirilmiş, H.pylori ile zenginleştirilmiş ve test kartının üstünde kurutulmuştur. Her bir test kartının üzerinde üç ayrı yuvarlak bulunmaktadır. Serum ¼'lük fosfat tamponlu tuz içinde pH 7.2'ye kadar dilüe edilmiştir. Serumdan bir damla birinci yuvarlağa damlatılıp üç dakika kadar rotasyon hareketi yaptırılmakta; eğer serum örneği pozitif ise aglutinasyon gözlenmektedir. İkinci ve üçüncü yuvarlaklar ise pozitif ve negatif kontrolleri içermektedir. Aglutinasyon tam (beyaz zeminde kırmızı granüller şeklinde) veya parsiyel (opak bir zeminde granüller şeklinde) olabilmektedir. Pozitif sonuç serumdaki spesifik H.pylori antikorlarının seviyesinin tespit edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir.

İstatistiksel Analiz, SPSS for Windows 5.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı, karşılaştırmalar için ise Mann Whitney U ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. $p < 0.05$ olanlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi. İstatistiksel karşılaştırmalar için H.pylori pozitif ve negatif semptomatik grup ve H.pylori pozitif asemptomatik grup gözönüne alındı; H.pylori negatif semptomatik grup ise vaka sayısının azlığı nedeniyle değerlendirmeye alınmadı.

BULGULAR

Çalışmaya dispeptik yakınmalarla başvuran 73 hasta ve sağlıklı 50 kişi alındı. H.pylori pozitif 52 kişilik vaka grubunun yaş ortalaması 46.05 ± 16.94 yıl (20-75), H.pylori negatif olan 21 kişilik kontrol grubunun yaş ortalaması 46.62 ± 15.58 yıl (20-82) olarak bulundu. Serolojik inceleme sonucunda 73 hastanın 50'sinde (%68.5), sağlıklı 50 kişinin ise 43'ünde (%86) pozitiflik elde edildi. (Tablo I) Histopatolojik yöntem referans test serolojik yöntem ise tarama testi olarak kabul edilip dört gözlü tablo oluşturuldu. (Tablo II) Bu tabloya göre uyguladığımız serolojik testin duyarlılığı %84.6, seçiciliği %71.4, pozitif prediktif değeri %88, negatif prediktif değeri %65.2, toplam geçerliliği %80.8 olarak hesaplandı.

Tablo I. Endoskopi uygulanan vakalarda saptanan patolojiler histopatolojik ve serolojik pozitiflik

Endoskopik Bulgular	Vaka Sayısı	Histopatolojik Pozitiflik	Serolojik Pozitiflik
Gastrik ülser	7 (%9.5)	6 (%85.7)	3 (%42.9)
Düodenal ülser	21 (%31.3)	16 (%76)	16 (%76)
Gastrik ve Düodenal ülser	2 (%2.7)	2 (%100)	2 (%100)
Gastrit	43 (%58.7)	28 (%65.1)	29 (%67.4)
Toplam	73	52	50

Tablo III'de ise ilk 3 grup karşılaştırıldı, 4. grup ise vaka sayısının azlığı nedeniyle değerlendirmeye alınmadı. Karşılaştırılan gruplar içerisinde yaş ve monosit sayısı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p < 0.05$).

Tablo II. Uygulanan serolojik testin duyarlılığı ve seçiciliği

	Referans Test		Toplam
	(+)	(-)	
Tarama Testi (+)	44 (GP)	6 (YP)	50
Tarama Testi (-)	8 (YN)	15 (GN)	23
Toplam	52	21	73

H.pylori negatif olan semptomatik grupta H.pylori pozitif diğer iki gruba göre monosit sayısının anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Gruplar arasında kan lökositlerini oluşturan nötrofil, lenfosit ve monosit parametreleri göz önüne alınarak cinsiyet, yaş grupları ve sigara içme alışkanlığı⁸ bakımından karşılaştırma yapıldı ve istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. Üç grup (H.pylori pozitif semptomatik grup, H.pylori negatif semptomatik grup, H.pylori pozitif asemptomatik grup) gözönüne alındığında bayanlarda H.pylori negatif grupta monosit sayısı pozitif olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu.

TARTIŞMA

Helicobacter pylori enfeksiyonunun kan tablosunda oluşturduğu değişiklikleri saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda bakterinin hem immün stimulan hem de immün supresif özelliğinden söz edilmektedir⁹. Kartunen ve arkadaşlarının 40 kişisi erkek toplam 96 kişi üzerinde yaptığı çalışmada vakaların %60'ında histopatolojik olarak H.pylori pozitif bulunmuş; flow cytometric metodla yapılan kan analizinde toplam beyaz küre, nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofil sayıları karşılaştırılmış; H.pylori pozitif olanlarda tüm değerler H.pylori negatif olanlara göre daha yüksek olmakla birlikte

Tablo III. Semptomatik ve asemptomatik grubun hematolojik değişkenler ve yaş açısından ortalama ve (standart sapma) değerlerinin karşılaştırılması

	Semptomatik		Asemptomatik		P Değeri
	GRUP I H.pylori pozitif Ortalama±SS	GRUP II H.pylori negatif Ortalama±SS	GRUP III H.pylori pozitif Ortalama±SS	GRUP IV H.pylori negatif Ortalama±SS	
Lökosit (hücre/mm ³)	6574.47±2378.57	7533.33±1444.53	7162.79±1837.57	6928.57±925.05	0.088
Nötrofil (hücre/mm ³)	4020.30±2072.01	4600.00±1654.86	4612.09±1542.49	4514,29±1010.66	0.066
Lenfosit (hücre/mm ³)	1770.17±702.23	2120.00±681.59	1943.56±558.39	1757.14±355.23	0.152
Monosit (hücre/mm ³)	436.74±184.86	593.33±157.96	504.21±221.04	514.29±121.50	0.008
Yaş	45.40±14.54	44.53±17.45	36.33±10.47	42.86±12.80	0.007
Toplam Kişi Sayısı	47	15	43	7	

SS: Standart Sapma

istatistiksel açıdan lenfosit ve bazofil sayısındaki yükseklik anlamlı bulunmuştur. Bu durum H.pylori enfeksiyonunda allerjik mekanizmaların rol oynadığı düşüncesini uyandırmaktadır. Lenfositöz oluşu viral enfeksiyonların karakteristik özelliği olmasına rağmen immün cevabı uyaran herhangi bir enfeksiyonda da tespit edilebileceği şeklinde yorumlanmıştır^{10,11}. Bizim çalışmamızda 41 kişisi erkek toplam 73 kişi üzerinde çalışılmış ve vakaların % 71'inde H.pylori pozitif bulunmuş; flow cytometric metoduyla yapılan kan analizinde toplam beyaz küre, nötrofil, lenfosit, monosit sayıları karşılaştırılmış ve eozinofil, bazofil sayısı bazı vakalarda saptanamamış olması nedeniyle değerlendirmeye alınmamıştır. Karttunen ve arkadaşlarının aksine H.pylori negatif grupta tüm lökosit değerleri yüksek bulunmuş ancak bunlardan sadece monosit sayısındaki yükseklik istatistiksel açıdan anlamlılık göstermiştir. Helicobacter pylorinin insan immün sistemini uyaran bir bakteri olarak tanımlanmakla birlikte baskılayan yönü de olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Knipp ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada in vitro olarak H.pylorinin PPD, fitohemaglutinin ve konkanavalin A'ya karşı insan mononükleer hücrelerindeki büyümeyi doza dayalı bir şekilde azalttığı görülmüştür.

Sonuç olarak; H.pylorinin insan immün sistemini aktive etmek yanında aktive olmuş hücreleri regüle ederek immün supresyon yaptığı ve bu durumun belki de hastalığın kronik gidişinden sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır⁹. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da Knipp ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı

destekler yöndedir.

KAYNAKLAR

1. Axon ATR. Helicobacter pylori. its role in gastrointestinal disease. Astra and Science Press, London, 32, 1994.
2. Dixon MF. Helicobacter pylori and chronic gastritis. In: Rathbone BJ, Heatley RV, eds. Helicobacter pylori and gastroduodenal disease. Oxford, Blackwell Scientific, 124-139, 1992
3. Dunn BE. Pathogenic mechanisms of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin North Am, 22:43-57, 1993.
4. Owen RJ, Desai M, Figura N, Bayeli PF, Di Gregorio L, Russi M, Musmanno RA. Comparisons between degree of histological gastritis and DNA fingerprints, cytotoxicity and adhesivity of Helicobacter pylori from different gastric sites. Eur J Epidemiol, 9:315-321, 1993.
5. Bamford KB, Andersen L. Host response. Curr Opin Gastroenterol 13 (suppl. 1): 25-30, 1997
6. Atherton J, Covacci A. Pathogenic properties of Helicobacter pylori. Curr Opin Gastroenterol, 13 (suppl.1):20-24, 1997.
7. William A. Sodeman, Thomas M. Sodeman. Lökositler ve Hematopoetik Kök Hücreler. Pathologic Physiology, Mechanisms of Disease, 639-640, 1995.
8. Schwartz J, Weiss ST. Cigarette smoking and peripheral blood leukocyte differentials. Ann Epidemiol, 4:236-242, 1994.
9. Knipp U., Birkholz S., Kaup W., Opferkuch W. Immune suppressive effects of Helicobacter pylori on human peripheral blood mononuclear cells. Med Microbiol Immunol, 182: 63-76, 1993.
10. Tuomo J. Karttunen, Seppo Niemelas, Tuomo Kerola. Digestive Diseases and Sciences, Vol 41, No.7 July 1996, pp. 1332-1336.
11. Ernst PB, Jin Y, Reyes VE, Crowe SE. The role of the local immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation. Scan J Gastrol, 29(suppl. 205):22-28, 1994.