

Helicobacter Pylori İnfeksiyonunun Apoptozisdeki Rolü

Derya TOPAL¹, Vedat GÖRAL¹, A. Ender TOPAL²

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı¹, Kalp Damar Cerrahisi², Diyarbakır

1972'de Edinburg Üniversitesi'nden Kerr ve arkadaşları, portal ven oklüzyonundan sonra hepatositlerin merkezinde klasik nekroz bulguları saptarken; periferdeki hepatositlerin membranlarında tomurcuklanma ve hücrelerde büzülme şeklinde (zeiozis) değişiklikler görmüşlerdir. Nekroza farklı olan bu olaya, büzülme nekrozu (shrinkage necrosis) adını vermişlerdir. 8 yıl sonra deneysel olarak Whyllie, kortikosteroid eklenen doku kültürlerinde olgunlaşmamış timosit hücrelerindeki programlı ölümleri tanımlamış ve bu fizyolojik olayı Yunan mitolojisinde sonbahardaki yaprakların dökülmesine benzeterek, apo (ayn) ve ptosis (düşme) kelimelerini birleştirerek apoptozis olarak isimlendirmiştir (1).

Tıpkı *Helicobacter pylori* (*Hp*) gibi apoptozis de uzun yıllar boyunca gözardı edilmiştir. Ancak son yıllarda *Hp* ile ilişkisi ortaya çıktıkça yeniden gündeme gelmiştir.

Apoptozis dört ayrı aşamadan oluşmaktadır. Bunlar; başlangıç, efektör, degradasyon ve fagositoz dönemleridir. Sonuçta bir hücrenin yaşam süresini proapoptotik ve anti-apoptotik uyarılar arasındaki denge belirlemektedir.

Apoptozise yol açan prototip ölüm reseptörleri Fas (CD95, APO-1) ve tümör nekroz faktörü reseptörleri I ve II (TNF-RI ve TNF-RII)'dir. Bu reseptörlerin ligandları ise FasL ve TNF- α 'dır. Fas bir çok hücre tarafından üretilir, fakat FasL ön planda aktif Th1 T hücrelerinde bulunur. TNF- α , aktif T lenfositleri ve

makrofajlar tarafından üretilen çözünür bir sitokindir. Bu iki yolun dışında DR3, DR4, DR5 gibi apoptozisi tetikleyen başka reseptörler de araştırılmaktadır. Ligand-ölüm reseptörü ilişkisi sonucunda kaspazların (cysteine aspartate protease), özellikle kaspaz 8 veya 10'un, aktif hale gelmesi ile hücre içi proteoliz kaskadı gelişmektedir. Reseptör-ligand ilişkisi ile apoptozis aktif olarak indüklenebildiği gibi, gerekli sağkalım sinyallerinin olmaması (büyüme faktörü vb.) pasif olarak (intrinsik) apoptozis gelişmesine yol açabilir. Bu durumda mitokondri kaynaklı sitokrom-C ile birlikte APAF-1 (apoptotic protease activating factor) ve ATP, kaspaz 9'un aktivasyonuna yol açar. Sitokrom-C, APAF-1 ve kaspaz 9'un oluşturduğu kompleks kaspaz 3'ü aktif hale getirir ve hücrede apoptozise gider. Proapoptotik etkiye sahip bir gen olan bax, mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-C salınımına yol açarak apoptozise neden olur. Anti-apoptotik etkiye sahip bcl-2 ve bcl-xl gibi moleküller ise mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-C salınımını engelleyerek kaspaz yolunu bloke ederler (2).

Apoptozis birçok dokuda olduğu gibi GIS'te de hücre döngüsünün normal bir komponentidir. Hücre ölümü ile dengelenmeyen hiperproliferasyon malign transformasyona yol açabileceğinden, apoptozis ile proliferasyon arasındaki dengesizlik karsinogenezde önemli bir mekanizma olabilir.

Apoptozis başlatıcısı olarak büyüme faktörleri ve nörotransmitterler gibi fizyolojik aktivatörler, çevresel onkogenler yanında bakteriyel toksinler de or-

taya konulmuştur. Staph aureus ve E. Coli gibi por oluşturucu protein üreten ve bu yolla apoptozisi başlatan bakteriler bilinmektedir. *Hp* belirlenmiş olan çok çeşitli enzimleri ile gastrik mukozal defansın mukus komponentine ve gastrik epitelin yüzeyine tahrip edici etkiye sahiptir. Bu nedenle apoptozis üzerinde *Hp*'ninde benzer etkileri olabilir. Son zamanlarda *Hp*'nin mide epitel hücrelerinde apoptozisi arttırdığı gösterilmiştir (3).

Gastrik epitelyal apoptozis mukozada programlı fizyolojik bir olaydır ve hücre proliferasyonu ile bir denge içinde hücre döngüsünü regüle eder. Apoptoziste azalma veya hücre proliferasyonundaki artma gibi nedenlerle bu dengenin bozulması gastrik karsinogenezi önemli bir rol oynar. Çoğu gastrik adenokanserin normal gastrik mukozadan kronik gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve en sonunda displazi ve neoplaziye giden bir basamak şeklinde geliştiği bilinmektedir. *Hp*'de bu basamakların erken döneminden sorumlu tutulmaktadır.

İnflamasyonun olduğu yerde mide epitelyal hücrelerinde proliferasyon ve apoptozisin arttığı in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Bu bulgu ile birlikte sekonder gastritli (Chron hastalığı, eozinofilik gastrit, NSAID kullanımına bağlı gastrit) hastalarda epitel hücrelerinde apoptozis ve proliferasyonun olmaması mukozal inflamasyonun kendisinden çok bakteriyel ajanın yani *Hp*'nin hücre döngüsünü arttırıcı etkisini ön plana çıkarmaktadır (4).

Çeşitli çalışmalarda *Hp* ile apoptozis ilişkisi incelenmiştir. Hasumi ve arkadaşları, *Hp* (+) ülserli hastalarda *Hp* (-) sağlıklı insanlara göre apoptotik indeksin (AI) arttığını gördüler (5). Unger ve arkadaşları, *Hp* ile gastrik epitelinkübeye ettiklerinde, *Hp*'nin apoptozisi indüklediğini tespit ettiler (6). Dong ve arkadaşları, *Hp* (+) gastritte normal mukozaya göre AI'nin arttığını ve *Hp* eradikasyonu sonrası AI'nin normale geri döndüğünü yayınladılar (7). Hasegawa ve arkadaşları *Hp* ile infekte mukozayı elektron mikroskobu altında incelediğinde lamina propria fibroblast ve düz kaslarda apoptozis gördüler, *Hp* (-) mukozada ise apoptozis yoktu (8).

Yapılan çalışmalarda *Hp*'nin apoptozis üzerindeki etkisinin farklı yollarla olduğu düşünülmüştür. Bu mekanizmalar çeşitli hipotezlerle sunulmuştur. *Hp* gastritinin ilk patolojik görünümü nötrofilik gastrittir. Gastritin şiddetinin apoptozis ve proliferasyon üzerindeki etkileri çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Normal mukozada ancak birkaç apoptotik hücre mevcuttur, ortalama apoptotik hücre sayısı epi-

telyal hücrelerin % 2.9'u kadardır. Gastritli hastalarda apoptotik cisimcikler midenin tüm bölgelerinde gösterilmiştir. Özellikle Tip B gastritli vakalarda apoptotik hücre oranı % 16.8'e ulaşmakta, eradikasyon tedavisi sonunda % 3.1'e düşmektedir (4).

Hp gastrik epitele yapışınca epitel hücresinde IL-8 salınımı uyanılır ve sonuçta ortama lenfosit ve monositler çekilir. Bakteriyel lipopolisakkaritler ve üreaz aktivitesi inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu destekler. İnflamatuvar cevabın değişkenliği konağın herediter faktörlerine (pro-inflamatuvar sitokin salınım düzeyini belirleyen IL-1 genotipi) ve bakteriyel faktörlere (Cag A, lipopolisakkarit ve vac A) bağlıdır. Mukozal inflamasyon, pro-inflamatuvar sitokinler ve serbest radikaller aracılığı ile apoptozisi ve epitelyal hücrelerin atrofisini provoke eder (6). Nitekim Papa yaptığı çalışmada, Cag A (+) *Hp*'lerde reaktif oksijen metabolitleri ve buna bağlı DNA hasarı geliştiğini, DNA yıkım ürünü olan 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine'i *Hp*(+)'lerde % 70, *Hp*(-)'lerde ise % 20 oranında pozitif tespit etti (9).

Hp için CagA+ suşlarda Cag A'lere göre daha az apoptotik indeks tespit edilmiştir. Nitekim Cag A+ suşlarda daha yüksek inflamatuvar skor saptanır. *Hp* infeksiyonu sırasında Th1 cevabı ön plandadır. T hücrelerinin apoptozisi CD 95 = Fas yolu ile arttırıldığı bilinir.

Hp infeksiyonu sırasında gözlenen apoptozisde bax ekspresyonunda artış, buna karşılık diğer bcl-2 aile proteinlerinin seviyesinde çok az bir değişiklik gözlenmiştir. Bcl-2 53BP2 olarak adlandırılan ve önceleri p53'ün bağlandığı protein olarak adlandırılan proteine bağlanır. Bu protein üzerindeki bazı aminoasit rezidülerinin bcl-2 ve p53 için ortak olduğu tespit edilmiştir. Bcl-2, p53 tarafından başlatılan apoptozisi önleyebilir ancak p53 aracılı hücre siklüs durmasını engellemez. Bu bilgilere göre 53BP2; bcl-2'nin p53'ün bazı fonksiyonlarını önlenmesinde aracı bir protein gibi görülmektedir. *Hp* infeksiyonu için düşünüldüğünde üretimi artan bax; bcl-2'nin etkisini önlemekte bu yolla da bcl-2'nin p53 üzerindeki antiapoptotik etkisi ortadan kalkmakta ve p53 enfekte hücrelerde apoptozisi başlatabilmektedir (4).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, amonyağın farelerde apoptozisi indüklediği ve ülser iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir.

Direkt olarak *Hp* lipopolisakkaritinin fare mide epiteline verilmesi *Hp* gastritine benzer bir tablo oluşturmuş ve apoptozisi arttırmıştır. Apoptotik indeks lipopolisakkarit dozu ve gastropatinin derecesi ile

korelasyon göstermiştir. Ayrıca *Hp* ile infekte hastalarda antigastrik otoantikörler gösterilmiştir. Bu antikörlerin mevcudiyeti gastrik mukozal atrofi ve korpus ağırlıklı gastritin histolojik ve serolojik değişkenleri ile korelasyon göstermektedir ve bağlanma yerlerinden biri parietal hücrelerin kanalikülünde, H-K ATPaz'ın da yerleştiği kısımdır. Bu enzimin beta zinciri *Hp*'nin lipopolisakkaritinde de bulunan Lewis kan grubu antijenlerini içerdiğinden proton pompası otoimmün hedef olabilir. Endojen proteazların aktivasyonu, sitoskeletal bozulma, mitokondria fonksiyonlarının kaybı, DNA fragmentasyonu bunların neticesinde olabilir. Epitelin matrisle teması azalınca hızla apoptozise gitmektedir (4). *Hp* lipopolisakkariti laminin ile etkileşerek, onun gastrik epitelyal hücre membranını engeller. Ayrıca *Hp* lipopolisakkariti, monositler için kemoatraktandır ve serbest radikaller, IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α salınımını indükler. TNF- α 'nın apoptozisi indüklediği bilinir.

Yapılan bir çalışmada Cag A (+) *Hp* suşlarının lipopolisakkaritlerinin Lipid A'yı katalize ederek apoptozisi indüklediği düşünülmüştür. Cag A (+) *Hp* lipopolisakkaritlerinin TAK-1 (transforming growth factor beta-activated kinase) ve TAB-1 (TAK-1 binding protein 1)'i fosforile ettiği; buna karşılık Cag A (-) *Hp* lipopolisakkaritlerinin ise TAK-1 ve TAB-1'i fosforile etmediği gösterilmiştir.

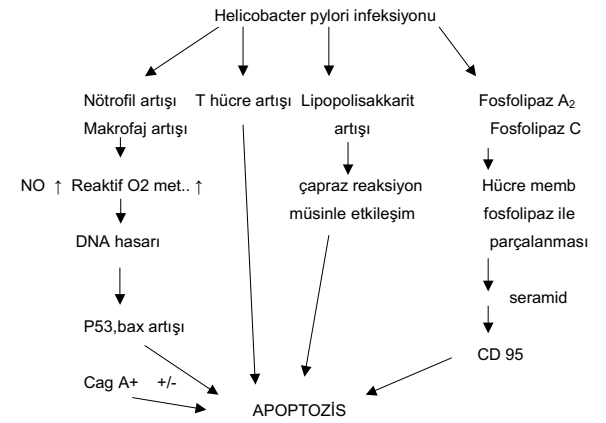
Hp'nin indüklediği apoptozisin tam mekanizması ile ilgili olarak çeşitli sinyal yolları tanımlanmıştır; büyüme faktörünün daha az salınması, oksidatif stres, DNA hasarı, nitrik oksid, immünolojik hadiseler, bazı özel hücre ölüm reseptörlerinin (CD95 ve TNF reseptörü gibi) aktivasyonu gibi. TNF- α ve CD95 reseptör aktivasyonu tek başlarına sadece küçük bir artış yapmakta, ancak *Hp* ile kombine olduğunda *Hp* ile ilişkili DNA fragmentasyonunu arttırmaktadır.

Yapılan çalışmalarda *Hp*'nin önemli virulans faktörü Vac A (+) suşlarının mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-C salınımına yol açarak apoptozisi başlattığı düşünülmüştür. Vac A (+) *Hp*'nin, korpus

epitelinde %94-270 oranında apoptozisde artış yaptığı, buna mukabil hücre proliferasyonunda %40 artış olduğu gözlenmiştir (4).

Yine bazı çalışmalarda *Hp*'nin Fas reseptör ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. *Hp* infeksiyonunda, bakteri tarafından salgılanan Fosfolipaz A2 ve Fosfolipaz C ile plazma membranında fosfolipid sfingomyelininin hidrolizi oluşur ve seramid açığa çıkar. Seramid ise içinde CD95'in de bulunduğu reseptörlere bağlanarak çeşitli hücre fonksiyonlarını aktive eden sekonder bir taşıyıcı olarak çalışır. Bu şekilde apoptozisi de başlatabilir. Sfingomyelin yolu olarak adlandırılan bu yolla çevresel çeşitli stresler direkt hücre membranını etkileyerek rol oynayabilirler. Fosfolipaz A2 ve Fosfolipaz C gastrik epitelyal hücreleri örten surfaktan katmanının fosfolipidlerini de parçalar. Bu ve benzer yollarla *Hp* infeksiyonunun sfingomyelin yolunu aktive etmesi mümkün görünmektedir.

Sonuç olarak *Hp* gastrik karsinogenezde tetikleyici olmasının yanı sıra koruyucu bir mekanizma olan apoptozis oluşumunda da önemli bir görev almaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. *Hp*-Apoptozis ilişkisi (3)

KAYNAKLAR

1. Douglas RG, Reid PB, Thomas GC: Apoptosis and cancer. Principles and Practice of Oncology. 1994, No 1,1-13.
2. Grodzicky T, Elkon KB. Apoptosis and Rheumatic diseases. Am J Med 2000; 108: 73-82.
3. Terzioğlu S, Özden A. *Helicobacter* ve gastrik kanser. Güncel Gastroenteroloji 2000; 4(3): 210-222.
4. Serin E, Akkız H. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve apoptozis. Güncel Gastroenteroloji 1999; 3(2): 133-139.
5. Hasumi K, Tanaka K, Saitoh S, Takagi A, et al. Roles of tumor necrosis factor-alpha-receptor type 1 and Fas in the *Helicobacter pylori* - induced apoptosis of gastric epithelial cells. J Gastroenterol Hepatol. 2002 Jun; 17(6): 651-8.

-
6. Unger Z, Molnar B, Szaleczky E, Torgykes E, Muller F, Zagoni T, Tulassay Z, Pronai L. Effect of *Helicobacter pylori* infection and eradication on gastric epithelial cell proliferation and apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; Jan-Oec; 95(1-6): 355-60.
 7. Oong Q, Liu W, Zheng X. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial apoptosis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 1997 Nov. 36(11): 751-3.
 8. Hasegawa C, Ihara T, Sugamata M. Ultrastructural evaluation of apoptosis induced by *Helicobacter pylori* infection in human gastric mucosa: Novel remarks on lamina propria mucosae. *Med Electron Microsc* 2000; 33(2): 82-88.
 9. Papa A, Danesa S, Sgambato A, Ardito R. et al. Role of *Helicobacter pylori* CagA+infection in determining oxidative DNA damage in gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol*. 2002; 37(4): 409-13.