

ACTA CLINICA

Helicobacter pylori

TOMICA MILOSAVLJEVIĆ, Gost urednik

VOLUMEN 2 • BROJ 1 • APRIL 2002

Klinički centar Srbije, BEOGRAD

UREDNIK

Profesor dr sci Dragan Micić

SEKRETAR

Asistent dr sci Đuro Macut

REDAKCIJA

Profesor dr sci Slobodan Apostolski

Profesor dr sci Zorana Vasiljević

Profesor dr sci Dragoslava Đerić

Profesor dr sci Vojko Đukić

Profesor dr sci Petar Đukić

Profesor dr sci Vladimir Kostić, dopisni član SANU

Profesor dr sci Zoran Krivokapić

Profesor dr sci Zoran Latković

Profesor dr sci Tomica Milosavljević

Profesor dr sci Dragan Micić

Profesor dr sci Milorad Pavlović

Profesor dr sci Predrag Peško

Profesor dr sci Nebojša Radunović

Profesor dr sci Ruben Han

IZDAVAČKI SAVET

Akademik profesor dr sci Ljubiša Rakić, predsednik

Akademik profesor dr sci Vladimir Bošnjaković

Profesor dr sci Vladimir Bumbaširević, dopisni član SANU

Akademik profesor dr sci Živojin Bimbaširević

Profesor dr sci Felipe F. Casanueva, Španija

Profesor dr sci Bogdan Đuričić, dopisni član SANU

Akademik profesor dr sci Vladimir Kanjuh

Profesor dr sci Joseph Nadol, SAD

Profesor dr sci Miodrag Ostojić, dopisni član SANU

Profesor dr sci Michel Paparella, SAD

Akademik profesor dr sci Ivan Spužić

Akademik profesor dr sci Vojin Šulović

Akademik profesor dr sci Veselinka Šušić

RECENZENTI

Profesor dr sci Petar Đukić, Institut za kardiovaskularne bolesti, Klinički centar Srbije

Profesor dr sci Milorad Pavlović, Institut za infektivne i tropske bolesti, Klinički centar Srbije

Profesor dr sci Nebojša Radunović, Institut za ginekologiju i akušerstvo, Klinički centar Srbije

GOST UREDNIK

TOMICA MILOSAVLJEVIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine-gastroenterolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, direktor klinike, pomoćnik generalnog direktora Kliničkog centra Srbije za internističke grane, Klinički centar Srbije, Beograd

Saradnici

IVAN BORIČIĆ, dr sci med., profesor na katedri za patološku anatomiju Medicinskog fakulteta, Institut za patologiju, Beograd

MILUTIN BULAJIĆ, mr sci med., asistent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Klinika za internu medicinu, KBC Dr Dragiša Mišović, Beograd

MIRKO BULAJIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

PREDRAG DUGALIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, asistent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

SRĐAN ĐURANOVIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, asistent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

BRANISLAVA IVANOVIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - kardiolog, docent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti kardiovaskularnog sistema, Klinika za Kardiologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

GORAN JANKOVIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, docent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

RADA JEŠIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

IVAN JOVANOVIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

IVANA JOVIČIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

DIMITRA KALIMANOVSKA, mr sci med., specijalista interne medicine - kardiolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti kardiovaskularnog sistema, Klinika za Kardiologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

ANA KARADŽIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - kardiolog, Institut za bolesti kardiovaskularnog sistema, Klinika za Kardiologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

NADA KOVAČEVIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

MIODRAG KRSTIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, docent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, pomoćnik direktora klinike, Klinički centar Srbije, Beograd

RADMILO KRSTIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

MATHIAS LOEHR, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, profesor na katedri za internu medicinu, Department of Gastroenterology, University of Rostock, Germany

SNEŽANA LUKIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

NENAD MIJALKOVIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, asistent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

DANIJELA MILETIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

MIROSLAV MILIĆEVIĆ, dr sci med., specijalista opšte hirurgije, profesor na katedri za hirurgiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinički centar Srbije, Beograd

DRAGAN POPOVIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, asistent na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

ALEKSANDRA SOKIĆ-MILUTINOVIĆ, mr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, Institut za bolesti digestivnog sistema, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

BOJAN ŠTIMEC, dr sci med., profesor na katedri za anatomiju Medicinskog fakulteta, Institut za anatomiju, Beograd

MILENKO UGLJEŠIĆ, dr sci med., specijalista interne medicine - gastroenterolog, profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta u Beogradu, Institut za bolesti digestivnog sistema, Centar za dijagnostiku, direktor Centra, Klinički centar Srbije, Beograd

SADRŽAJ

Uvod (istorijat i epidemiologija infekcije Helicobacter pylori)	9
Tomica Milosavljević	
Patogeneza Helicobacter pylori infekcije (Helicobacter pylori gastritis i duodenitis)	14
Aleksandra Sokić-Milutinović i Tomica Milosavljević	
Ulkusna bolest želuca i duodenuma i Helicobacter pylori	30
Tomica Milosavljević, Miodrag Krstić i Ivan Jovanović	
Maligne bolesti želuca i Helicobacter pylori	38
Milenko Uglješić	
Funkcionalna dispepsija i Helicobacter pylori	47
Ivan Jovanović i Miodrag Krstić	
Gastroezofagealna refluksna bolest i Helicobacter pylori	57
Srđan Đuranović i Dragan Popović	
Nesteroidni antiinflamatorni lekovi i Helicobacter pylori	64
Nenad Mijalković i Predrag Dugalić	
Vandigestivne manifestacija Helicobacter pylori infekcije:	
1. Helicobacter Pylori i ciroza jetre	70
Miodrag Krstić, Rada Ješić i Goran Janković	
2. Helicobacter Pylori i koronarna bolest	75
Branislava Ivanović, Dimitra Kalimanovska i Ana Karadžić	
3. Značaj Helicobacter pylori infekcije u oboljenjima bilijarnog stabla	82
Milutin Bulajić, Bojan Štimec, Miroslav Milićević, Matthias Loehr, Ivan Boričić, Radmilo Krstić, Nada Kovačević, Mirko Bulajić	

Dijagnostika Helicobacter pylori infekcije	88
Ivana Jovičić i Snežana Lukić	
Terapija Helicobacter pylori infekcije	98
Tomica Milosavljević	

UVODNO IZLAGANJE

Tomica Milosavljević

SAŽETAK

Otkriće *Helicobacter pylori* infekcije predstavlja važan momenat u novom načinu shvatanja patogeneze hroničnog gastritisa, ulkusne bolesti, ali i drugih bolesti, kao što su MALT limfom i karcinom želuca.

Infekcija ima razmere pandemije, jer se smatra da polovina čovečanstva poseduje *Helicobacter pylori* na svojoj sluznici. Prevalenca infekcije u direktnoj je povezanosti sa niskim socioekonomskim nivoom življenja, povećanim brojem članova porodice, a smanjenim životnim prostorom i lošom higijenom. U ekonomski razvijenom svetu češća je infekcija kod starijih populacija, naročito posle 50-te godine starosti.

Klinički ishod infekcije zavisi od odnosa mikroorganizma, domaćina i od faktora sredine. Najveći broj, skoro 90% osoba nema nikakve tegobe i ne treba da se smatra bolesnim. Zavisno od genske predispozicije, infekcija se može ispoljiti na različite načine.

Ključne reči: *Helicobacter pylori*, epidemiologija.

ABSTRACT

For the last twenty years we have witnessed a major revolution in the science and practice of medicine. The discovery of *Helicobacter pylori* should make gastritis, peptic ulcer disease, gastric carcinoma and gastric lymphoma historic diseases.

Over the time, the genus *Helicobacter* has evolved rapidly due to isolation of novel species from a wide range of animals and humans. The genus now includes at least 24 formally named species as well as numerous other helicobacters not formally named. Nineteen of these formally named helicobacters.

The discovery of *Helicobacter pylori* interest in the range of other spiral bacteria in the stomach, but also in the other parts of the digestive system.

Helicobacter pylori is the best known and the most important in terms of global impact on human disease.

Key words: *Helicobacter pylori*, epidemiology.

Dr Robin Warren je završio svoje predavanje u Lisabonu, 1997.godine dijapozitivom na kome dve bakterije-*Helicobacter pylori* razgovaraju i jedna drugoj kaže:

“Ako želiš miran život nemoj da otkrivaš nikada nešto za šta drugi misle da nije moguće”.

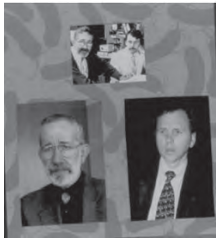
Dr Bary Marshall je 2002.godine, na Svetkom kongresu gastroenterologa u svom predavanju povodom dvadesetogodišnjice otkrića *Helicobacter pylori* infekcije istakao još jednom da je bakterija bila otkrivana, viđena, fotografisana, da se pojavljivala u mnogobrojnim radovima unazad sto godina, ali da nije prepoznata kao značajna, zbog dugogodišnje gastroenterološke dogme da je nemoguće da mikroorganizmi prežive u kiseloj sredini želuca.

Warren-ova opsesivna ideja iz 1979.godine da na sluznici želuca spiralne bakterije ne izgledaju slučajno tu prisutne kao sekundarna flora, već da imaju izgled aktivnih mikroorganizama i da učestalost njihovog javljanja u antrumskom delu želuca obolelih od duo-



denalnog ulkusa i hroničnog gastritisa prevazilazi slučajnost, danas je paradigmatična i svakodnevna činjenica u gastroenterološkoj praksi širom sveta. Međutim, čitava priča o *Helicobacter pylori* nije bila tako jednosmerna i brzo ostvariva.

Kada je Dr Barry Marshall dobio novi posao u bolnici u Pertu, Australija, 1981.godine, kao tek svršeni specijalista, ideje patologa Warrena izgledale su mu prilično fantastične i nerealne. Naime, priča o ulozi mikroorganizama u nastajanju ulkusne bolesti i drugih oboljenja gornjih delova digestivnog sistema bila je do tog vremena više puta pominjana. Još Bizzozero je 1893.godine pomenuo postojanje spiroheta u želucu. Jaworski je 1899.godine detaljno opisao spiralne mikroorganizme nađene u sedimentu gastričnog sadržaja čoveka, međutim, rezultati su publikovani na poljskom jeziku i nisu privukli mnogo pažnje. Krienitz je 1906. opisao spiralne mikroorganizme u uzorcima karcinoma želuca, kod čoveka. Solmon 1896, a Kasai i Kabogashi 1919.godine uspeali su da zaraze miševne spirohetama nađenim u želudačnom soku pasa. Interesovanje za mikroorganizme u želucu nije jenjavalo, tako da i sledećih decenija povremeno u literaturi dolazi do pojave podataka o čestom javljanju bakterija u soku ili na sluznici želuca. Međutim, sva iskustva poslednjih decenija zadržavala su se na pretpostavkama da se radi o sekundarnoj kontaminaciji i da nalaz bakterija u želucu nema primarni patogenezni značaj. Plamer je 1954.godine, na primer ustvrdio da su dotadašnji nalazi mikroorganizama na sluznici želuca slučajan nalaz, rezultat kontaminacije. Takođe Steer i Colin-Jones 1975.godine nalaze bakterije u biopstatima sluznice želuca, ali tvrde da se radi o *Pseudomonas aeruginosa* kao kontaminatu.



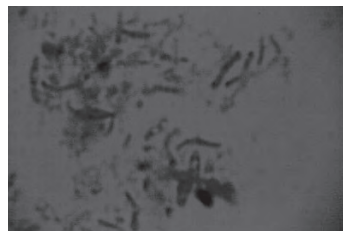
Warren i Marshall

Warren je bio dovoljno ubedljiv da svojom idejom zainteresuje kliničara Marshalla (slika 1) i to je bio početak njihovih sistematskih pokušaja da izoluju klicu, koju su našli skoro kod svih obolelih od hroničnog gastritisa i duodenalnog ulkusa. Kad je postignuto obostrano, jedinstveno ubeđenje da bakterija zaista postoji i da je po svoj prilici važna, trebalo je izolovati je i kultivisati *in vitro*. Poznata je priča o tome

da je tek posle više neuspešnih pokušaja jedna od kultura, 35. po redu porasla posle produženog kultivisanja, iznudenog praznikom, a Warren navodi, i ne baš ispravnim inkubatorom. Zbog sličnosti sa *Campylobacter jejuni*, nazvali su je *Campylobacter pyloridis*, odnosno u početku CLO (kampilobakteru slični organizmi). Poslednji od Kohovih postulata postigao je Marshall popivši kulturu bakterije i dobivši akutni gastritis, koji je potom izlečen antibioticima. Jedan od prvih pacijenata, po rečima Warrena, bila je njegova supruga. Studije profila masnih kiselina, kao i subjediniče 16 RNK pokazale su da se radi o sasvim novoj bakteriji, pa je svrstana u novi rod kao prvi pripadnik pod imenom *Helicobacter pylori*. (1, 2, 3, 4)

Sada već istorijska pisma objavljena u Lancet- u 1983.godine nisu lako i brzo našla put do čitalaca. Po rečima Warrena, tek posle usmenih saopštenja prvih iskustava na sastanku posvećenom *Campylobacter* infekciji pojavila su se u Lancetu, i to posle intervencije Martina Skirowa, britanskog uglednog stručnjaka i poznavaoa *Campylobacter*a, sada već istorijska pisma dvojice upornih istraživača, a zatim i kompletni rezultati studije. Te godine počinje ponovno interesovanje za bakterijsku etiologiju oboljenja gornjih delova digestivnog sistema,

široj svetu. Velikom brzinom umnožava se broj istraživanja na ovu temu. Mnoge grupe istraživača uspešno ponavljaju rezultate Marshalla i Warrena, a već 1987. godine održava se prvi osnivački sastanak Evropske grupe za proučavanje *Helicobacter pylori* infekcije. Tih godina sve u vezi sa infekcijom bakterijom *Campylobacter pyloridis* izgledalo je kao još jedan modni talas u gastroenterologiji sa mnoštvom stavova da će čitava bura sa ovom starom-novom bakterijom brzo proći. 1987. godine i u našoj sredini počinju prva kultivisanja *Campylobacter pyloridis*.



Prvi razmaz *Helicobacter pylori* u našoj zemlji iz 1987. g. (M. Lalić, M. Grujić, T. Milosavljević)

Devedesete godine donose jasne stavove o učestalosti i značaju infekcije u raznim oboljenjima i terapijske protokole: klatno sa od jedne krajnosti, sumnje i neverice, najpre pomerilo na suprotnu stranu oduševljenja, da bi sada, 20 godina kasnije počelo uravnoteženo da pokazuje pravu meru razumevanja i tumačenja značaja *Helicobacter pylori* infekcije. Vrlo brzo posle prvih publikovanih radova broj istraživanja je naglo povećan, od 20 radova u periodu 1985- 1989 na 1354 u periodu 1991-1992, do 3957 registrovanih referenci na Medline bazi podataka u periodu 1993-1997.

EPIDEMIOLOGIJA

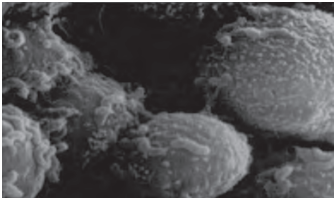
Infekcija ima razmere pandemije, jer se smatra da polovina čovečanstva poseduje *Helicobacter pylori* na svojoj sluznici. Prevalenca infekcije u direktnoj je povezanosti sa niskim socioekonomskim nivoom življenja, povećanim brojem članova porodice, a smanjenim životnim prostorom i lošom higijenom. U ekonomski razvijenom svetu češća je infekcija kod starijih populacija, naročito posle 50-te godine starosti. Marshall je predložio objašnjenje ove činjenice time što su to generacije rođene pre 1945. godine, kada nije bilo antibiotika u širokoj upotrebi. U zemljama u razvoju, procenat inficiranosti od 50% vidi se već u uzrastu deteta do 10 godina starosti, sa stalnom tendencijom povećavanja procenta inficiranosti sa starenjem. (5, 6, 7, 8)

Geografske razlike u prevalenci između populacija izazvane su različitim incidencama infekcije u odnosu na socioekonomski nivo sredine : u zemljama u razvoju incidenca iznosi 3 do 10% godišnje, a u razvijenim sredinama 0,5 do 1% godišnje. Takođe postoji trend da se incidenca infekcije populacije iste starosne dobi, ali rođenih kasnije smanjuje. Na primer, osobe rođene 1940. godine u 20-toj godini života imale su višu učestalost infekcije, nego osobe rođene 1960. godine u 20-toj godini života.

Da li će prisustvo infekcije značiti odmah i bolest zavisi ne samo od bakterije, već svakako i od organizma domaćina, njegovih imunih sposobnosti i tolerancije infekcije kao ne tako važne, ili interakcije bakterije i organizma sa svojim posebnim osobinama i predispozicijama što onda kao rezultat ima ili duodenalni i želudačni ulkus, samo aktivni gastritis, MALT limfom, ili karcinom želuca. U svakom slučaju postojanje infekcije *Helicobacter pylori* na sluznici želuca samo po sebi nije bolest, niti se svaka od pomenutih bolesti može *a priori*

smatrati infektivnom. Interakcija bakterije i čovečjeg organizma složenija je i zahteva pažljivo razmatranje svake pojedinačne mogućnosti, sa još uvek brojnim dilemama i nedovoljno čvrstih stavova za svaku kliničku situaciju.

Helicobacter pylori je jedan od 24 do sada poznata člana porodice Helicobacteria, koji je adaptiran na ljudski želudac. Bakterije ove porodice pripadaju Gram negativnim bakterijama, imaju spiralni oblik dužine oko 3, a širine oko 0,5 mikrona, sa 4 do 6 unipolarno smeštenih flagela. Može se naći u obliku slova S, U, ali i u cirkularnom, ili iregularnom obliku, ili u kokoidnoj formi. Helicobacter raste na temperaturi od 37 stepeni Celzijusa, u atmosferi smanjene koncentracije kiseonika (5% O₂) i uz dodatak CO₂(5-10%), na krvnom ili čokoladnom agaru, uz optimalni neutralni pH sredine od 6-8, koji može biti i 1,5-2, ukoliko u podlozi ima ureje. U porodici Helicobacteria nalaze se i Helicobacter felis (domaćin mačka i pas), Helicobacter helmanii (ranije poznat kao Gastrospirillum hominis), Helicobacter mustelae (domaćin je tvor). Poslednja otkrivena do sada je Helicobacter hepaticus, za koji se pretpostavlja da bi mogao da ima ulogu u nastajanju karcinoma bilijarnih puteva i žučne kesice.



Elektronska mikroskopija
Helicobacter pylori

Pretpostavlja se da je porodica Helicobacter stara onoliko koliko i želudac kao organ, znači 300 miliona godina, a da je Helicobacter pylori evoluisao kao i ljudski želudac. Ovako

posmatrane činjenice o Helicobacter pylori koren su pretpostavke o bakteriji kao komensalu, čak korisnoj u nekim slučajevima – poslednjih godina zapažena je povećana učestalost refluksnog ezofagitisa i karcinoma kardije zajedno sa povećanom eradikacijom Helicobacter pylori infekcije. Međutim, praktično je nemoguće naći Helicobacter, a da nema i inflamacije želuđadne sluznice i imunog odgovora, što je zaista dovoljno da se bakterija smatra patogenom. (9, 10, 11, 12)

Rezervoar infekcije je oboleo čovek, a putevi prenošenja su oro-oralni i feko-oralni. Primer mogućeg oro-oralnog prenošenja je prenošenje infekcije kontaminiranom gastričnom sondom ili gastrokopom. Iz salive je dokazana mogućnost kultivisanja bakterije. Opšti trendovi infekcije u zemljama u razvoju slični su infekciji virusom A hepatitisa, što ozbiljno upućuje i na feko-oralni put prenošenja, na šta između ostalog upućuje podatak da kulture bakterija mogu da prežive u vodi i do 48 sati.

LITERATURA

1. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983;1:1273-1275.
2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1983; 1:1311-1315.
3. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al. Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen nov.as Helicobacter pylori comb.nov.and Helicobacter mustelae comb.nov., respectively. Int J Syst Bacteriol 1989;39:397-405.

4. Marshall BJ, Royce H, Annear DI, et al. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbios Letters* 1984;25:83-88.
5. Moran AP, O Morain. *Pathogenesis and Host Response in Helicobacter pylori Infections*. Normed Verlag, Bad Hamburg, 1997.
6. Tytgat GNJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk. In: Farthing MJG, Misiewicz JJ. *Evidence-Based Clinical Gastroenterology*, John Libbey Eurotext, Paris 1997: 1-8.
7. Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection: mechanisms and consequences. In: Galmiche JP, Gournay J. *Recent Advances in the Pathophysiology of Gastro-intestinal and Liver Diseases*, John Libbey Eurotext, Paris 1997:31-46.
8. Milosavljević T. *Helicobacter pylori u kliničkoj praksi*. Vreme knjige, Beograd, 1996.
9. Misiewicz JJ. Management of *Helicobacter pylori*-related disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol*.1997; 9(Suppl 1):S17-S21.
10. Bytzer P. Can Noninvasive *Helicobacter pylori* Testing Save Endoscopy. *Endoscopy*,1997,29:649-51.
11. Blaser MJ. Heterogeneity of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9(Suppl 1):S3-S7.

PATOGENEZA *HELICOBACTER PYLORI* INFEKCIJE. GASTRITIS I DUODENITIS IZAZVAN *HELICOBACTER PYLORI* INFEKCIJOM

Aleksandra Sokić-Milutinović i Tomica Milosavljević

SAŽETAK

Patogeneza *Helicobacter pylori* (*Hp*) infekcije zavisi od: virulencije i patogenosti bakterije, faktora sredine (higijenske i dijetetske navike, stres) i osobina domaćina (starost, pol, krvna grupa). Značajnu ulogu u patogenezi *Hp* infekcije igraju faktori neophodni za efikasnu kolonizaciju sluznice i preživljavanje bakterije u želucu (ureaza, porini, flagele, lipopolisaharid, adhezini i različiti enzimi), kao i faktori po kojima se sojevi bakterije razlikuju (ekspresija gena za *vacA* i *cagA* proteine) i koji su odgovorni za različit ishod infekcije i kliničku sliku u inficirane osobe. Gastroduodenalna inflamacija izazvana s *Helicobacter pylori* podrazumeva prisustvo neutrofila, T limfocita, plazmocita i makrofaga i praćena je različitim stepenom oštećenja i degeneracije epitela. Akutni *Hp* gastritis prati hipohlorhidrija, a hronični povećanje kisele želudačne sekrecije izazvana hipergastrinemijom zbog smanjene ekspresije somatostatina u toku *Hp* infekcije. Ishod infekcije prevashodno zavisi od bakterijskog soja, distribucije gastritisa, postojanja i stepena atrofije želudačne sluzokože.

Cljučne reči: *Helicobacter pylori*, gastritis, patogeneza

SUMMARY

Patophysiological events in the course of *Helicobacter pylori* (*Hp*) infection depend on: virulence of the microorganism, environmental (stress, diet, habits) and host factors (age, sex, blood group). Important virulence factors are presence of flagella, urease activity, lipopolysaccharide, and various enzymes that enable bacterial colonization and persisting infection of gastric mucosa. Gastroduodenal inflammation in the course of *Hp* infection is characterized with presence of inflammatory infiltrate (neutrophils, T lymphocytes, macrophages, plasmocytes) and variable degree of gastric mucosal damage. Acute gastritis during *Hp* infection induces hypochlorhydria, but chronic phase is followed by acid hypersecretion (due to hypergastrinemia induced with lower levels of somatostatin expression). The outcome of infection depends on bacterial strain, distribution of gastritis and presence and extent of gastric mucosal atrophy.

Key words: *Helicobacter pylori*, gastritis, patophysiology

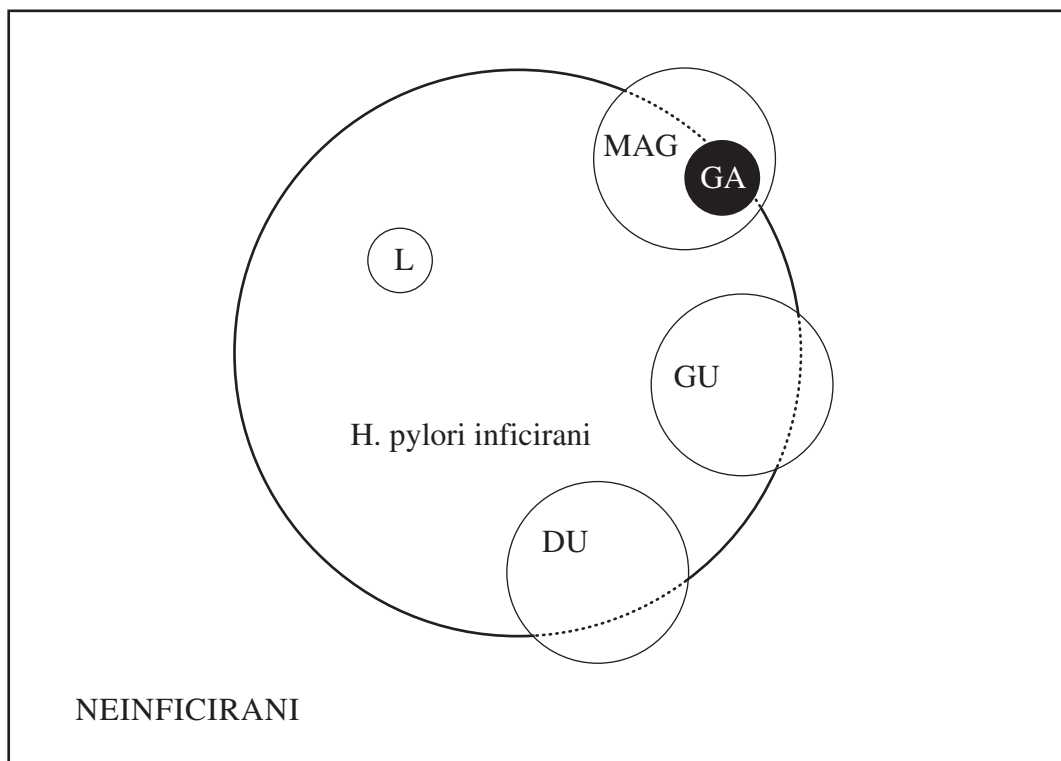
Helicobacter pylori (*Hp*) infekcija je danas možda najčešće infektivno oboljenje u svetu-prevalenca infekcije procenjena je na oko 50% celokupne ljudske populacije. U većine osoba infekcija je asimptomatska, a samo mali broj osoba dobija ulkusnu bolest, multifokalni atrofični gastritis koji može da progredira u adenokarcinom ili MALT limfom (1-6) (**shema 1**).

Patogeneza *Hp* infekcije zavisi od: virulencije i patogenosti bakterije, faktora sredine (higijenske i dijetetske navike, stres) i osobina domaćina (starost, pol, krvna grupa).

Faktori virulencije bakterije

Značajnu ulogu u patogenezi *Hp* infekcije igraju, uslovno rečeno, dve grupe faktora. U prvoj grupi nalaze se faktori neophodni za efikasnu kolonizaciju sluznice i preživljavanje bakterije u želucu (ureaza, porini, flagele). Druga grupa su faktori po kojima se sojevi *Helicobacter pylori* razlikuju, pre svih *vacA* i *cagA*, a najverovatnije su odgovorni i za različit ishod infekcije i kliničku sliku u inficirane osobe (4,7).

1. pokretljivost bakterije. Motilitet *Helicobacter pylori* je neophodan za indukciju i održavanje kolonizacije želudačne sluznice.



Shema 1. Vennov dijagram međusobne povezanosti *Helicobacter pylori* infekcije, ulkusne bolesti, atrofičnog gastritisa i adenokarcinoma želuca.

GU-gastritični ulkus, **DU**-duodenalni ulkus, **MAG**-multifokalni atrofični gastritis, **GA**-gastritični adenokarcinom, **L**-limfom želuca

Pokretljivost *Helicobacter pylori* u želudačnom soku i mukusu omogućavaju spiralni oblik bakterije i flagele. Flagele, (ima ih od jedne do sedam) lokalizovane su na istom polu tela bakterije (8) i sagrađene su od tri glavne funkcionalne jedinice: tela (sastoji se od flagelarnog “motora” koji konvertuje energiju elektrolitnog gradijenta u mehaničku energiju), zatim flagelarne kuke (povezuje telo sa spoljnim flagelarnim filamentom) i dugačkog, spiralnog flagelarnog filameta (rotatornim pokretima pokreće bakteriju unapred). Flagele poseduju omotač, relativno otporan na spoljašnje uticaje koji štiti unutrašnje, osetljive strukture, od dejstva kiseline. Flagelarni protein je kopolimer dva proteina nazvanih flagelin A i B koji imaju antigene osobine te učestvuju u formiranju imunog odgovora domaćina (5,7). Flagele omogućavaju prodor bakterija kroz mukusni sloj (aflagelarni sojevi ne mogu kolonizovati želudačnu sluzokožu) i smanjuju efikasnost uklanjanja bakterije iz želuca peristaltikom (1,7).

2. ureazna aktivnost. Ureaza je metaloenzim koji sadrži nikel i sastoji se od dve subjedinice molekulske težine 26.5 kD i 61 kD. Njihova sinteza kodirana je strukturnim genima

ureA i ureB uz još 4 dopunska gena neophodna za sintezu biološki aktivnog enzima. (9). Pod dejstvom ureaze urea se razlaže na amonijak i ugljen dioksid. Ureaza je kod *Helicobacter pylori* lokalizovana i u citoplazmi bakterije i ekstracelularno. Unutarćelijska ureaza štiti bakteriju od kiselog želudačnog sadržaja povećanjem vrednosti periplazmatskog pH i membranskog potencijala, a isto tako i stimuliše sintezu proteina u kiseloj pH sredini (10). Naime, amonijak nastao razgradnjom uree, služi bakteriji kao značajan izvor azota potrebnog za sintezu proteina. Nivo aktivnosti ureaze u ćeliji određuje pH vrednost spoljašnje sredine. Ekstracelularna ureazna aktivnost dovodi do smanjenja kiselosti u mikrosredini bakterije i na taj način joj omogućava preživljavanje u kiseloj sredini želuca i kolonizaciju epitela (12). Kako transportni sistem za ureazu nije pronađen u ćeliji *Helicobacter pylori* smatra se da autoliza bakterija dovodi do oslobađanja ureaze i drugih citoplazmatskih proteina koji zatim bivaju adsorbovani na površinu ćelije vijabilnih bakterija (11). Superficialna lokalizacija ureaze obezbeđuje rezistenciju bakterije prema želudačnoj kiselini, a ima i ulogu adhezivnog faktora (ureaza negativni mutanti *Hp* ne kolonizuju želudačnu sluznicu *in vitro*). Ureazna aktivnost bakterije neophodan je uslov za razvoj hronične infekcije (4), mada neki autori opisuju i ureaza-nezavisni mehanizam zaštite od kiselog želudačnog sadržaja (12). Amonijak oslobođen ureaznom aktivnošću bakterije, može indukovati apoptozu, vezivanjem za specifične proteine na površini epitelnih ćelija koji pripadaju klasi II glavnog histokompatibilnog kompleksa. Na taj način smanjuju se odbrambene funkcije epitela i otežava zaceljenje ulkusne niše. Pored direktnog oštećenja ćelija amonijakom, u reakciji sa vodom iz amonijum hidroksida (NH_4OH) oslobađa se citotoksični hidroksilni jon (OH). Promenom pH na nivou mukozne membrane i površine parijetalnih ćelija, amonijak dovodi i do povratne difuzije H^+ jona. Amonijak pojačava i dejstvo vakuolizirajućeg toksina VacA, aktivira polimorfonukleare (PMN) i fagocite i stimuliše ih na produkciju citokina. Vodoni peroksid (H_2O_2), kao produkt aktiviranih ćelija zapaljenja i Cl^- jon prisutan u želucu formiraju hipohlornu kiselinu (HOCl). U prisustvu amonijaka formira se lipofilni monohloramin (NH_2Cl), izuzetno jak oksidans koji oštećuje tkiva prodirući intracelularno. Amonijak ima i inhibitorno dejstvo na oslobađanje somatostatina (SST) iz antralne sluzokože želuca (12). Ureaza može indukovati smanjenje opsonizacije, degradacijom C3b komponente komplementa vezane za ćeliju bakterije (5,14)

3. citotoksin asocirani proteini –adhezini. *Helicobacter pylori* pokazuje tropizam pri izboru domaćina, kao i tkivni tropizam. *Hp* naseljava gastrični tip sluznice u želucu i zone ektopičnog želudačnog epitela (Barettov ezofagus, Meckelov divertikulum i ektopičnu gastričnu mukozu u rektumu), kao i zone gastrične metaplazije u bulbusu duodenuma. Tkivni tropizam je bar delimično objašnjen postojanjem adhezina, molekula koji postoje na površini bakterije i ponašaju se kao ligandi za receptore na epitelu domaćina. Adhezini označeni i kao BabA proteini su konzervirani proteini, i imaju ulogu u pričvršćivanju bakterije za sluznicu želuca (15). Do sada je utvrđeno postojanje nekoliko molekula-receptora za koje se vezuju adhezini bakterija: fosfatidiletanol-amin, GM3 gangliozid, Lewis B antigen, hemaglutinini zavisni od sijaline (pljuvačne) kiseline, hemaglutinini nezavisni od sijaline kiseline, laminin u bazalnoj membrani (5).

4. lipopolisaharid . Lipopolisaharid (LPS) se danas smatra primarnim faktorom virulencije u toku *Helicobacter pylori* infekcije (16,17). LPS se vezuje za laminin (protein ekstracelularnog matriksa) slabeći njegovu interakciju sa integrinskim receptorima ćelija želudačne sluznice (16,18,19). U odnosu na izgled kolonija, koje mogu biti grube (R- *engl.* rough) i glatke (S-*engl.* smooth), definisana su dva soja *Helicobacter pylori* sa različitom patogenetskom ulogom. Bakterije izolovane iz S kolonija sintetisale su LPS visoke i niske molekulske mase i nisu trpele pojačanu lizu u prisustvu vazduha, dok su R kolonije sintetisale isključivo niskomolekulski LPS i pokazivale pojačanu lizu na vazduhu. (20). Na animalnim modelima pokazano je da LPS dovodi do histoloških promena tipičnih za akutni gastritis, remeti ćelijski ciklus, proliferaciju ćelija i indukuje apoptozu (16,17). Mehanizam kojim LPS indukuje apoptozu uključuje bateriju proinflamatornih citokina iz familije TNF α čiju ekspresiju regulišu na nivou translacije IL-4 i IL-13. Oligosaharidni deo glikoproteinskog molekula LPS učestvuje u prepoznavanju ćelija gastrične mukoze i omogućava adherenciju bakterije na ćeliju domaćina putem receptora na ćelijskoj membrani. LPS remeti makromolekulsku strukturu mucina i onemogućava njegovo vezivanje za receptor na ćelijama želudačne sluzokože i taj način omogućava prodor bakterije kroz mukusni sloj, stimuliše sekreciju pepsinogena i njegovu konverziju u pepsin (16,17,18,21,22,23). U toku akutno nastalog gastritisa izazvanog LPS *Helicobacter pylori* na animalnom modelu pokazano je povećanje nivoa endotelina-1 (peptid odgovoran za oštećenje sluznice po tipu stres ulkusa) (22,23). LPS pokazuje strukturnu sličnost sa Lewis x i y antigenima krvnih grupa. Lewis antigeni se nalaze i na površini epitelnih ćelija i leukocita. To može imati uticaja u nastanku autoantitela i atrofiji želudane sluznice(5).

5.katalaza i superoksid dismutaza. Ova dva enzima neutrališu dejstvo superoksida i peroksida stvorenih od strane PMN, a koji dovode do oksidativne destrukcije lipida i drugih biohemijskih komponenti bakterija (5,13).

6.kokoidne forme bakterije. Kokoidne forme predstavljaju biološki oblik bakterija u nepovoljnim uslovima sredine. Nastaju u uslovima smanjenja nutritivnih materija (u vodi), izloženosti antibioticima, produženoj inkubaciji.

7.toksični enzimi (fosfolipaza A2 i C, alkohol dehidrogenaza). Fosfolipaza A2 i C dovode do degradacije fosfolipidne komponente mukozne barijere sa sledećim oslabljanim arahidonske kiseline i nastankom leukotrijena i citokina. Fosfolipaze indirektno, razlažući ćelijsku membranu dovode do stvaranja lizolecitina i faktora aktivacije trombocita (*engl.* PAF-Platelet Activating Factor), te nastaje oštećenje mikrocirkulacije i ishemijska nekroza tkiva. U toku metabolizma ugljenih hidrata alkohol dehidrogenaza dovodi do nastanka acetaldehida koji verovatno sprečava regeneraciju epitela (1,5).

8.proteolitički enzimi. *Helicobacter pylori* poseduje proteolitičke enzime za koje se smatra da učestvuju u razlaganju mukusnih glikoproteina i slabljenju mukusne barijere. Pokazano je i postojanje enzima sa hemolitičkom aktivnošću čija je uloga u patogenezi infekcije za sada nejasna.

9.metabolički enzimi. *Helicobacter pylori* je mikroaerofilna bakterija sa setom enzima za aerobni, ali i anaerobni metabolizam što joj omogućava da opstane unutar mukusnog sloja gde

je koncentracija kiseonika niža nego u lumenu želuca. Metabolički enzimi sami po sebi ne utiču na patogenezu *Helicobacter pylori* infekcije. (1,5,12).

10. egzotoksini. Oko 50% sojeva *Helicobacter pylori* proizvodi vakuolizacioni citotoksin (vac A) koji dovodi do vakuolizacije citoplazme i degeneracije ćelija sluznice domaćina. Vac A se sintetise kao 140 kDa težak prekursor, da bi prolazeći kroz spoljašnju bakterijsku membranu došlo do aktivacije i sekrecije toksina u definitivnom monomerskom obliku 94 kDa molekulske težine. Agregacijom ovako sekretovanih, aktivnih monomera formira se heptamer, molekulske težine oko 700 kDa. Mehanizam dejstva vacA uključuje pojačano lučenje kiselih hidrolaza, poremećaje u strukturi citoskeleta sa prerasporedom aktinskih filamenata, te slabljenje spojnih kompleksa između ćelija i smanjenje viskoznosti mukusa (12, 24). Toksin penetrira u ćelije i vezuje se za ATPaze inaktivirajući ih. Prekid oksidativne fosforilacije i ćelijskog disanja dovodi do intracelularnog nagomilavanja H⁺ jona i acidoze. Usled metaboličkog stopa, sprečava se fuzija vakuola sa Golgijevim aparatom. Ovo ima za posledicu agregaciju vakuola, otok endozoma, a onda i ćelije u celosti. Dolazi do poremećaja propustljivosti ćelijske membrane, pasivne difuzije ekstracelularnih supstanci koje za sobom povlače vodu i još većeg otoka ćelije. Pucanjem membrane nastupa smrt ćelije. Infekcija vacA pozitivnim sojevima je češća u pacijenata sa ulkusnom bolešću, atrofičnim gastritisom i karcinomom želuca. (4,12,25). Sojevi koji ne sintetisu vacA citotoksični efekat na gastričnu mukozu ostvaruju putem amonijaka oslobođenog ureaznom aktivnošću (26). Prisustvo vacA citotoksina samo pojačava citotoksične osobine određenog soja *Helicobacter pylori*.

11.heterogenost sojeva. Identifikacija *Helicobacter pylori* genoma omogućila je otkrivanje nekoliko izvora razlika među sojevima. Pored genotipskih postoje i fenotipske varijacije unutar populacije, koje nastaju pod uticajem životne sredine i individualnih osobina domaćina, tj. čoveka. Genotipske razlike mogu nastati kao rezultat:

- a) point-mutacije (promena samo jednog baznog para, purinska-pirimidinska baza).
- b) mozaicizma (istovremeno postojanje promenljivog i nepromenljivog dela genoma).
- c) gena koji nisu stalno prisutni (postoji dvadesetak gena dugačak, genski lokus označen kao Cag (cytotoxin associated gene) region prisutan u 60-80% sojeva *Helicobacter pylori*).
- d) mobilne DNK i genomske rekombinacije koji su za sada nedovoljno ispitani.

Faktori koji indukuju oštećenje želudačne sluzokože

Faktori iz *Helicobacter pylori* koji indukuju oštećenje želudačne sluznice su: LPS, vacA i cagA proteini, proteini toplotnog stresa (HSP, engl.-heat shock protein) i faktori hemotakse i aktivacije leukocita.

Vakuolizacioni citotoksin opisan je u vezi sa faktorima virulencije.

Protein visoke molekulske mase označen kao cagA prisutan je u oko 60% sojeva *Helicobacter pylori*. Postoji povezanost između sinteze vakuolizacionog citotoksina i aktivnosti gena odgovornog za sintezu cagA proteina. CagA+ sojevi dovode do veće produkcije interleukina (IL-8), tumor nekrotišućeg faktora alfa (TNF), ?i intenzivnijeg inflamatornog odgovora. Kao posledica toga dolazi do poremećaja regulacije sekrecije hlorovodonične

kiseline i bržeg razvoja atrofije želudačne sluznice što povećava rizik od razvijanja ulkusa i karcinoma želuca. (4,27). Ekspresija CagA može u nekim populacijama biti marker povećanog rizika za razvoj ulkusne bolesti (npr. u zapadnoevropskim zemljama dok je u Kini prevalenca cagA+ sojeva previsoka da bi bila koristan marker)(28,29). Cag A gen je deo genoma označen kao [patogeno ostrvo] u kome se takođe nalaze locirani i picA i picB geni (determinišu nivo inflamatornog odgovora domaćina). Gubitak ekspresije cagA proteina mutacijom, ne dovodi do gubitka ekspresije vacA i soj zadržava sposobnost izazivanja vakuolizacije citoplazme ćelija domaćina. (13)

Proteini toplotnog stresa tipa A i B koje sintetiše *Helicobacter pylori* kao odgovor na stresne faktore sredine, predstavljaju 3-5% svih proteina bakterijske ćelije. Zbog strukturne sličnosti s proteinima toplotnog stresa domaćina, smatra se da im je osnovna uloga u nastanku autoimunih procesa mehanizmom unakrsne reaktivnosti i održavanju hronične inflamacije, mada postoje dokazi i da protein toplotnog stresa HSP60 ima ulogu u indukciji hronične inflamacije (30,31).

Indirektno oštećenje sluznice želuca odvija se i putem formiranja gustog PMN i monocitnog infiltrata u mukozi i submukozi, a zbog hemotaktičkog i proinflamatornog dejstva površinskih proteina *Helicobacter pylori* (ureaze, PAF). Ureaza koju stvara *Helicobacter pylori* na nivou genske transkripcije reguliše sintezu proinflamatornih citokina i na taj način aktivira makrofage prisutne u mukozi domaćina. Ovo dejstvo ureaza ispoljava na sintezu informacione RNK za IL-1b, IL-6 i TNFa, ali ne i za IL-8 (32,33). Ekspresija IL-8 je indukovana lokalnim povećanjem nivoa proinflamatornih citokina i adherencijom *Helicobacter pylori* na ćelije želudačne sluzokože (34). Povećana ekspresija IL-6 na margini peptičke ulceracije u želucu rezultat je aktivnosti makrofaga, T limfocita i ćelija želudačnog epitela, te se smatra da IL-6 ima značajnu ulogu u ulcerogenezi u *Helicobacter pylori* pozitivnih bolesnika (32). IL-4 i IL-10 predstavljaju antiinflamatorne citokine i igraju bitnu ulogu u smanjenju intenziteta inflamatornog odgovora na *Helicobacter pylori* infekciju, te su najverovatnije značajni za nastanak hroničnog gastritisa (34).

Mehanizam nastajanja infekcije

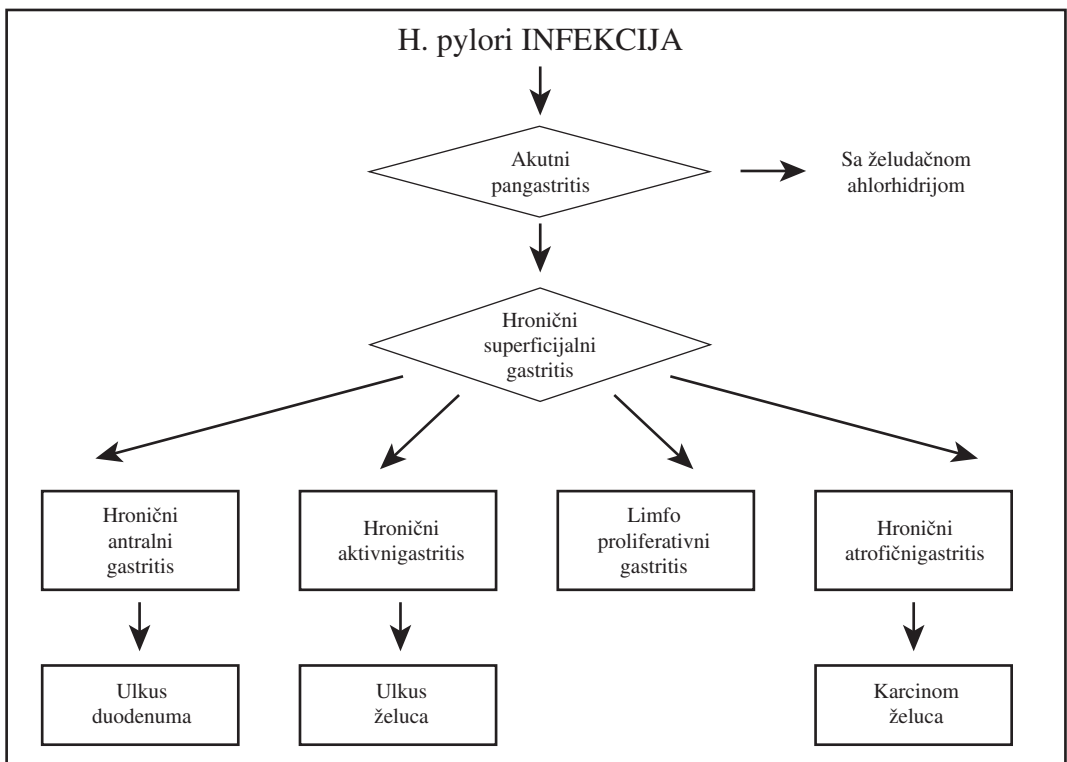
Kolonizacija želudačne sluzokože

Mehanizmi odbrane želudačne sluzokože od bakterijske kolonizacije uključuju kiselost želudačnog sadržaja i normalnu peristaltiku. Pokretljivost *Helicobacter pylori* koju omogućavaju flagele neophodan je uslov za indukciju i završnu kolonizaciju mukoze. Flagele omogućavaju migraciju bakterije kroz mukusni sloj do površine gastričnog epitela gde je pH sredine gotovo neutralan (na luminalnoj strani mukusnog sloja pH je oko 2) i sprečavaju dejstvo peristaltike na uklanjanje bakterije iz želuca (1). U toku *Helicobacter pylori* infekcije dolazi do delimičnog prekida, ali ne i potpune disfunkcije mukusne barijere praćenog poremećajem polimerne strukture mukusnog gela (35). Protektivnu sposobnost mucina želučane sluznice

remete *Hp* infekcija i nespecifični mehanizmi inflamacije (36,37). Pravu adherenciju za površinske epitelne ćelije želudačne sluzokože ostvaruje svega oko 21% bakterija, dok se najveći broj nalazi slobodan u površinskom mukusnom sloju. Kao najverovatniji adhezioni molekuli i ligandi koji omogućavaju pričvršćivanje *Helicobacter pylori* za epitel navode se hemaglutinini, lipid-vezujući adhezin i adhezin koji prepoznaje Lewis-ov antigen krvnih grupa (4,38).

Inflamacija želudačne sluzokože

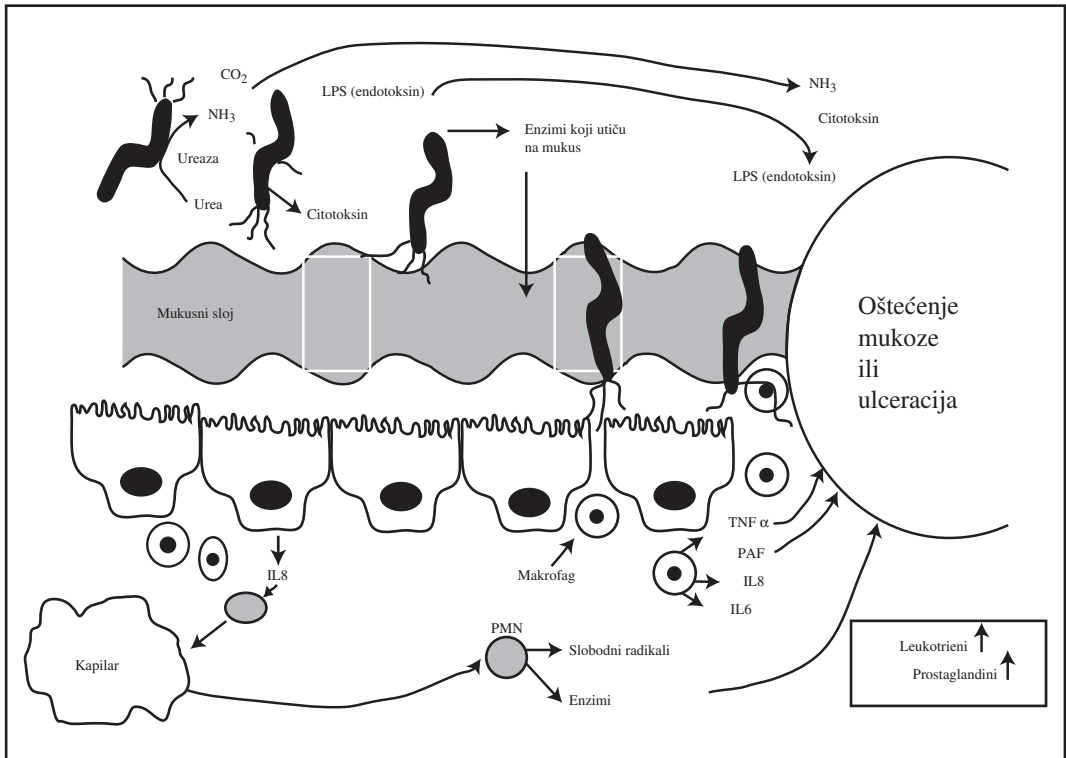
Helicobacter pylori izaziva kontinuiranu inflamaciju želudačne sluzokože koja posle kratkotrajne akutne, prelazi u višegodišnju hroničnu, u većine bolesnika asimptomatsku fazu. Hronična inflamacija je neophodna karika u progresiji od hroničnog, preko atrofičnog gastritisa i razvoja intestinalne metaplazije do invazivnog adenokarcinoma želuca (4). (shema 2)



Shema 2. Promene u inflamiranoj želudačnoj mukozi uzrokovane *Hp* infekcijom

Primarna lokalizacija *Helicobacter pylori* infekcije je antralna regija želudačne sluzokože s izraženom tendencijom progresije ka korpusnoj regiji (antralizacija korpusne mukoze) u starijem životnom dobu (39). Kolonizacija korpusne sluzokože s *Helicobacter pylori* uvek je praćena pojavom intestinalne metaplazije i/ili gastrične atrofije u antralnom delu želuca.

Gastroduodenalna inflamacija izazvana s *Helicobacter pylori* podrazumeva prisustvo neutrofila, T limfocita, plazmocita i makrofaga, praćena je različitim stepenom oštećenja i degeneracije epitela, što u zavisnosti od dužine trajanja infekcije uzrokuje različiti tip gastritisa. (shema 3)



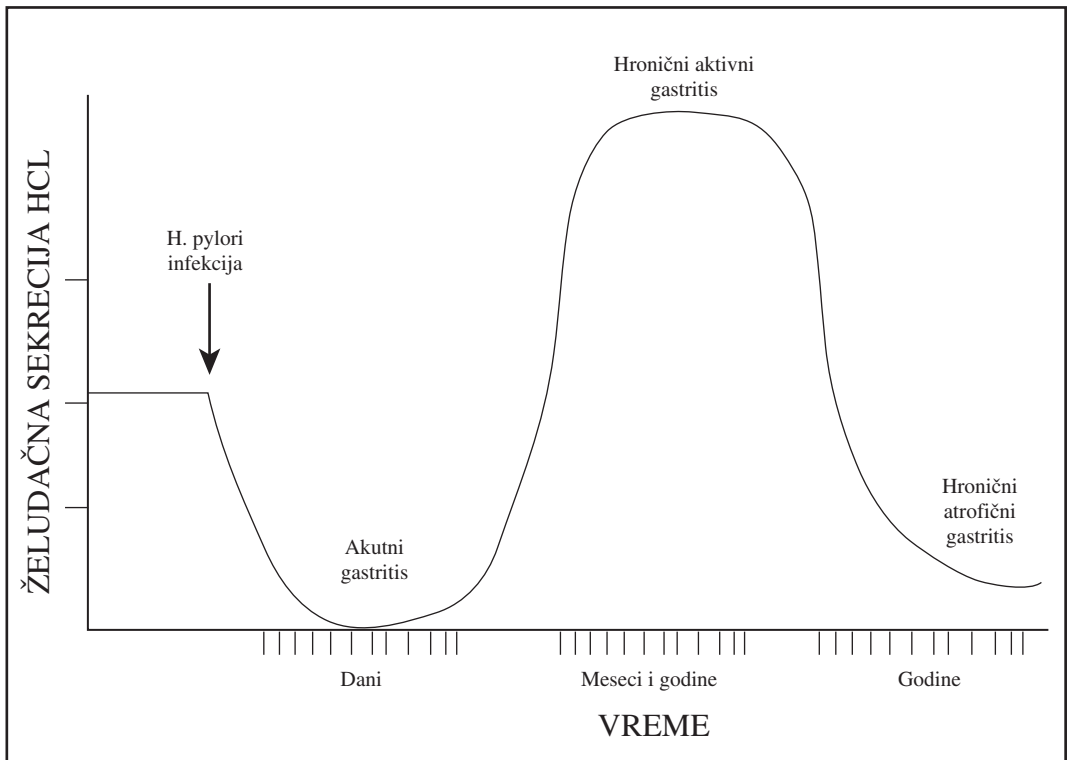
Shema 3. Patogeneza oštećenja sluznice želuca u toku *Helicobacter pylori* infekcije

Imuni odgovor na *Helicobacter pylori* infekciju rezultat je interakcije dve populacije T pomažućih limfocita (Th) i to Th1, koji luče proinflamatorne citokine i aktiviranjem CD8+ T ćelija dovode do pojave autoantitela i ćelijski posredovanog tkivnog oštećenja, i Th2 koji su odgovorni za humoralni imuni odgovor. T ćelijska populacija lokalizovana u tkivu želuca nezavisno od *Helicobacter pylori* statusa bolesnika ima sposobnost sekrecije veće količine interferona g (IF-g) nego T limfociti izolovani iz periferne krvi. Sekrecija IF-g dodatno reverzibilno povećana u toku infekcije *Hp*, u vezi je sa stepenom infiltracije mononuklearnim ćelijama i snižava se posle eradikacione terapije.

Nekoliko mehanizama je odgovorno za inflamaciju i to: supstance koje sekretuje *Helicobacter pylori* (ureaza, porini i molekuli koji stimulišu hemotaksu neutrofila i monocita i aktiviraju mononuklearne ćelije), citokini oslobođeni u toku direktnog kontakta *Helicobacter pylori* sa epitelnim ćelijama (ključna uloga u inflamaciji pripisuje se IL- 8 s obzirom da su PMN osnovna komponenta celularnog imunog odgovora na *Helicobacter pylori* (4)).

Promene želudačne sekrecije u toku *Helicobacter pylori* infekcije

Helicobacter pylori infekcija potencira kiselu želudačnu sekreciju u bolesnika sa duodenalnim ulkusom, ali je snižava u bolesnika sa karcinomom želuca (3). Kao rezultat akutne ingestije *Helicobacter pylori* javlja se prolazna hipohlorhidrija u želucu zbog disfunkcije parijetalnih ćelija za koju su najverovatnije odgovorni LPS bakterije, citokini poreklom iz mukoze želuca ili proteini koji inhibiraju gastričnu sekreciju (40). Do povlačenja hipohlorhidrije u nelečenih osoba dolazi kroz nekoliko meseci i pH želudačnog sadržaja dostiže normalne vrednosti. (shema 4).



Shema 4. Kisela želudačna sekrecija u toku *Helicobacter pylori* infekcije

Kod *Helicobacter pylori* pozitivnih bolesnika sa gastritisom vrednosti maksimalne sekrecije (MAO- *engl.* maximal acid output) su normalne ili lako snižene, izrazito sniženje prisutno je kod bolesnika sa karcinomom želuca (najverovatnije zbog prisutne atrofije sluznice), dok je kod pacijenata sa ulkusom vrednost MAO povišena. Eradikacija infekcije ne menja značajno vrednosti MAO i bazalne sekrecije (BAO- *engl.* basal acid output) u *Helicobacter pylori* pozitivnih ispitanika sa gastritisom (41,42). Međutim kod bolesnika sa ulkusom, eradikacija infekcije snižava vrednosti MAO, BAO i PAO (3, 43,44,45,46). Direktni uticaj inflamatornih citokina (IL1b, IL-8 i TNFa) na kiselu sekreciju parijetalne ćelije nije dokazan, te se smatra da se imaju indirektni do sada nedovoljno razjašnjeni mehanizmi dejstva (47).

Povećana kisela želudačna sekrecija u toku *Helicobacter pylori* infekcije može se objasniti hipergastrinemijom koja povećava sekreciju pepsina i neparijetalnu želudačnu sekreciju. Zato po eradikaciji bakterije dolazi do istovremenog sniženja nivoa serumskog gastrina, neparijetalne želudačne sekrecije i sekrecije pepsina. Određenu ulogu u povećanju kisele sekrecije verovatno ima i oštećenje epitela želuca toksinima bakterije (2).

Hipergastrinemija nastaje kao rezultat direktnog dejstva amonijaka oslobođenog ureaznom aktivnošću bakterije (prodorom u G ćeliju izaziva njenu degranulaciju), i medijatora inflamacije (IL-1-b, IL-8 i TNFa, interferon g i PAF povećavaju oslobađanje gastrina iz G ćelije (3,48)). Po uspešno sprovedenoj eradikacionoj terapiji kod svih ispitanika dolazi do sniženja bazalnih i stimulisanih vrednosti gastrina (2,49,50).

Presudan uticaj na pojavu hipergastrinemije ima smanjenje ekspresije somatostatina (SST) u toku *Helicobacter pylori* infekcije sluznice želuca. Smanjene vrednosti SST posledica su smanjene količine samog peptida, informacione RNK, smanjenog broja i supresije funkcije D ćelija (3, 50,51,52). Bitnu ulogu u smanjenoj ekspresiji SST imaju TNFa, LPS, amonijak i monohloramin (5,53).

Gastritis izazvan s *Helicobacter pylori*

Mukoza želuca svakodnevno je izložena agensima koji mogu izazvati njeno oštećenje. Zahvaljujući velikoj regeneratornoj sposobnosti, sluznica želuca se najčešće obnovi *ad integrum*. Kada je dejstvo nokse izraženo i prolongirano dolazi do razvoja atrofije i intestinalne metaplazije kao mehanizma adaptacije na nepovoljnu ekološku sredinu.

Akutni *Helicobacter pylori* gastritis traje 7 do 10 dana. Kod malog broja ljudi, posebno u dečijem uzrastu, infekcija biva eliminisana, dok kod većine posle perioda od 3-4 nedelje počinje akumulacija ćelija hroničnog zapaljenja. Hronični gastritis praćen je gubitkom apetita, osećajem bola, mučnine, podrigivanjem, povraćanjem i druge simptomima i znacima dispepsije uz evidentno nisku korelaciju kliničkog i patološkog nalaza (3,5,54).

Patohistološki nalaz u *Helicobacter pylori* gastritisu

Akutni gastritis je superficijalni pangastritis praćen pojavom epitelne degeneracije, smanjenjem produkcije sluzi i eksfolijacijom površnih ćelija uz kompenzatornu foveolarnu hiperplaziju i privremenu ahlorhidriju. Sama bakterija oslobađa veći broj supstanci i direktnim hemotaksičnim efektom dovodi do neutrofilne infiltracije u *lamini propriae*. Istovremeno nastaje degranulacija mastocita, oslobađanje medijatora inflamacije i porast vaskularne permeabilnosti, uz povećan broj leukocitnih adhezionih molekula na endotelnim ćelijama i povećanje migracije PMN.

Hronični Helicobacter pylori gastritis Pojava Sidnejske klasifikacije omogućila je klasifikaciju i gradaciju hroničnog gastritisa. Upotrebom pet histoloških parametara i to hronične inflamacije, neutrofilne aktivacije, glandularne atrofije, intestinalne metaplazije i gustine *Helicobacter pylori* kolonizacije, kao i četiri stepena gradacije poremećaja (nedostaje, blag, umeren i težak poremećaj) kvalifikuje se svaki hronični gastritis.

Prelazak *Helicobacter pylori* gastritisa u hroničnu fazu određen je pojavom ćelija hronične inflamacije (limfocita i plazmocita) i prisustvom limfoidnih folikula (rezultat proliferacije B limfocita koji uglavnom sekretuju IgA antitela zadužena za zaštitu mukoze) (54). Smatra i da su T ćelije lokalizovane u želucu diferentovane u pravcu sekrecije većih količina IF-g nevezano za prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije (55). Dugotrajna *Helicobacter pylori* infekcija dovodi do pojave atrofije sluzokože želuca multifokalnog karaktera (gubitak žlezdanog tkiva i posledično istanjenje želudačne sluzokože) (56). Na atrofičnoj sluznici postoje zone površinske i glandularne hiperplazije koje sluznici daju nodularni izgled. Ovaj tip promene želudačne sluzokože povezan je sa pojavom dobro diferentovnog karcinoma želuca (57). Destrukcija bazalne membrane žlezda i pojava regenerativnog procesa vodi ka metaplaziji. Sa atrofijom sluzokože i pojavom intestinalne metaplazije nestaje *Helicobacter pylori* koji nema mogućnosti da kolonizuje na ovaj način izmenjenu sluznicu (40). Intestinalna metaplazija češća je kod ispitanika sa *Helicobacter pylori* infekcijom i bilijarnim refluksom, te se smatra da infekcija i refluks žuči deluju sinergistički na pojavu intestinalne metaplazije (58). Primena eradikacione terapije, po nekim autorima dovodi do redukcije ili čak i reverzije atrofičnih promena (59).

Faktori koji utiču na ishod Helicobacter pylori infekcije obuhvataju:

1. bakterijski soj. CagA+ češće nego cagA negativni sojevi dovode do atrofije želudačne sluzokože, pojave duodenalnog ulkusa i adenokarcinoma želuca

2. distribucija gastritisa. Pangastritis je češće povezan sa kasnijom pojavom adenokarcinoma želuca, dok predominantno antralna lokalizacija gastritisa dovodi do razvoja duodenalnog ulkusa

3. efekat kisele sekrecije na distribuciju gastritisa. Supresija kisele sekrecije inhibitorima protonske pumpe smanjuje gustinu kolonizacije u antrumu, ali ne utiče ili čak povećava gustinu kolonizacije bakterije u korpusnom delu želuca

4. atrofija želudačne sluzokože. Stepnica je u karcinogenezi u toku *Helicobacter pylori* infekcije, posebno udružena sa nedovoljnim unosom antioksidanasa i dijetom sa visokim unosom soli, kao i prisustvom HLADQ5. (3)

5. bakterijski soj. CagA+ češće nego cagA negativni sojevi dovode do atrofije želudačne sluzokože, pojave duodenalnog ulkusa i adenokarcinoma želuca

6. distribucija gastritisa. Pangastritis je češće povezan sa kasnijom pojavom adenokarcinoma želuca, dok predominantno antralna lokalizacija gastritisa dovodi do razvoja duodenalnog ulkusa

7. efekat kisele sekrecije na distribuciju gastritisa. Supresija kisele sekrecije inhibitorima protonske pumpe smanjuje gustinu kolonizacije u antrumu, ali ne utiče ili čak povećava gustinu kolonizacije bakterije u korpusnom delu želuca

8. atrofija želudačne sluzokože. Stepnica je u karcinogenezi u toku *Helicobacter pylori* infekcije, posebno udružena sa nedovoljnim unosom antioksidanasa i dijetom sa visokim unosom soli, kao i prisustvom HLADQ5. (3)

LITERATURA

1. Konturek, P.C. Physiological., immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to *H. pylori* derived gastrotoxins. *J Physiol Pharmacol*, 1997; 48: 3-42.
2. Feldman, M., Cryer, B., Lee, E. Effects of *Helicobacter pylori* gastritis on gastric secretion in healthy human beings. *Am J Physiol* 1998; 274:1011-1017.
3. Calam, J., Gibbons, A., Healy, Z.V., Bliss, P., Arebi, N. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Its effect on acid and gastrin physiology. *Gastroenterology* 1997; 113:S43-S49.
4. Peek, R.M., Blaser, M.J. Pathophysiology of *Helicobacter pylori*- induced gastritis and peptic ulcer disease. *Am J Med*. 1997; 102: 200-207.
5. Milosavljević T. *Helicobacter pylori* u kliničkoj praksi. Beograd, Vreme knjige, 1996.
6. Bobrzynski, A. Hormonal., secretory and morphological alterations in gastric mucosa in the course of *Helicobacter pylori* eradication in patients with duodenal ulcer and non-ulcer dyspepsia. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48 (Suppl 3): S4-S16.
7. Josenhans C, Suerbaum S. Flagella and motility of *Helicobacter pylori*. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag , Bad Hamburg, 16-25.
8. Blaser, M.J. Heterogeneity of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9 (suppl 1): S3-S7.
9. Mobley, H.L.T., Fulkerson, J.J., Hendricks, J.K., Garner, R.M. Expression of catalytically active urease by *Helicobacter pylori*. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag , Bad Hamburg, 58-66.
10. Scott, D.R., Weeks, D., Hong, C., Postius, S., Melchers, K., Sachs, G. The role of internal urease in acid resistance of *Helicobacter pylori*, *Gastroenterology* 1998; 114: 58- 70.
11. Moran, A.P., Wadstrom, T. Pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Curr Opin Gastroenterol* 1998; 14(suppl 1): S9-S14.
12. Figura, N., Vindigni, C., Presenti, L., Carducci, A. New acquisitions in *Helicobacter pylori* characteristics. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30 (suppl 3): S254- S258.
13. Figura, N. Vindigni, C., Covaci, A., Presenti, L., Burrioni, D., Vernillo, R., Banducci, T., Roviello, F., Marelli, D., Biscontri, M., Kristhodullu, S., Gennari, C., Vaira, D. Cag A positive and negative *Helicobacter pylori* strains are simultaneously present in the stomach of most patients with non-ulcer dyspepsia: relevance to histological damage. *Gut* 1998; 42: 772- 778.
14. Rokita, E., Makristathis, A., Presteri, E., Rotter, M.L., Hirschl, A.M. *Helicobacter pylori* urease significantly reduces opsonization by human complement. *J Inf Dis* 1998; 178:1521-1525.
15. Ilver, D., Arnqvist, A., Ogren, J., Boren, T. Adherence of *Helicobacter pylori*: mechanisms and relevance to pathogenesis. In: Pathogenesis and Host Response in *Helico-*

- bacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag, Bad Hamburg, 16-25.
16. Slomiany, B.L., Piotrowsky, J., Slomiany, A. Effect of sucralfate on gastric mucosal inflammatory responses induced by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. Scand J Gastroenterol 1998; 33:916-922.
 17. Slomiany, B.L., Piotrowsky, J., Slomiany, A. Induction of caspase-3 and nitric oxide synthase-2 during gastric mucosal inflammatory reaction to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. Bioch Mol Biol Int 1998; 46:1063-1070.
 18. Brzozowski, T., Konturek, P.Ch., Sliwowski, Z., Drozdowicz, D., Pajdo, R., Stachura, J., Hahn, E.G., Konturek, S.J. Lipopolysaccharide of *Helicobacter pylori* protects gastric mucosa via generation of nitric oxide. J Physiol Pharmacol 1997; 48:699-717.
 19. Piotrowsky J., Piotrowsky, E., Skrodzka, D., Slomiany, A., Slomiany, B.L. Induction of acute gastritis and epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. Scand J Gastroenterol 1997; 32:203-211.
 20. Bertram-Drogatz, P.A., Sobek-Klocke, I., Moller, C., Wingbermhle, D., Beil, W., Sewing, K.F., Manns, M.P., Wagner, S. Growth characteristics and influence of antibiotics on rough/smooth phenotypic variants of *Helicobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18:490-495.
 21. Aspinall, G.O., Moran, A.P. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide structure and mimicry of Lewis blood group antigens. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag, Bad Hamburg, 34-43.
 22. Slomiany, B.L., Piotrowsky, J., Slomiany, A. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: down regulation of nitric oxide synthase-2 and caspase-3 by sulglicotide. Bioch Bioph Res Com 1999; 261:15-20.
 23. Slomiany, B.L., Piotrowsky, J., Slomiany, A. Involvement of endothelin-1 in up- regulation of gastric mucosal responses to *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide. Bioch Bioph Res Com 1999; 258:17-20.
 24. Massari, P., Burroni, D., Charrel, M., Pagliaccia, C., Norais, N., Rappuoli, R., Reytrat, J.M., Telford, J.L. Vacuolating cytotoxin: structure, function and relevance to pathogenesis. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag, Bad Hamburg, 28-33.
 25. Yang, J.C., Kuo, C.H., Wang, H.J., Wang, T.C., Chang, C.S., Wang, W.C. Vacuolating toxin gene polymorphism among *Helicobacter pylori* clinical isolates and its association with m1, m2 or chimeric vacA middle types. Scand J Gastroenterol 1998; 33:1152-1157.
 26. Sommi, P., Ricci, V., Fiocca, R., Romano, M., Ivey, K.J., Cova, E., Solcia, E., Ventura, U. Significance of ammonia in the genesis of gastric epithelial lesions induced by *Helicobacter pylori*: an in vitro study with different bacterial strains and urea concentrations. Digestion 1996; 57: 299-304.
 27. Lin S-K, Lambert JR. *Helicobacter pylori* in ulcerogenesis. Scand J Gastroenterol 210: 64-69, 1995.

28. Park, S.M., Park, J., Kim, J.G., Cho, H.D., Cho, J.H., Lee, D.H., Cha, Y.J. Infection with *Helicobacter pylori* expressing the *cagA* gene is not associated with an increased risk of developing peptic ulcer diseases in Korean patients. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33:923-927.
29. Van Zwet AA, Megraud F. Diagnosis. *Curr Opin Gastroenterol* 14 (Suppl 1):S27-S33, 1998.
30. Labigne, A., Thiberge, J. M., Vanet, A. *Helicobacter pylori* heat-shock protein: molecular biology and potential pathogenic role. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag Bad Hamburg, 67- 73.
31. Vorobjova T, Ananieva O, Maaros H, Sipponen P, Villako K, Utt M, Nilsson I, Wadstrom T, Uibo R. Seropositivity to *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 is strongly associated with intensity of chronic inflammation, particularly in antrum mucosa: an extension of an 18-year follow-up study of chronic gastritis in Saaremaa, Estonia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001 Mar;30(2):143-9
32. Furukawa, K., Takahashi, T., Futoshi, A., Matsushima, K., Asakura, H. Enhanced mucosal expression of interleukin-6 mRNA but not of interleukin-8 mRNA at the margin of gastric ulcer in *Helicobacter pylori*-positive gastritis. *J Gastroenterol* 1998; 33:625-633.
33. Harris, P.R., Ernst, P. B., Kawabata, S., Kiyono, H., Graham, M.F., Smith, P.D. Recombinant *Helicobacter pylori* urease activates primary mucosal macrophages. *J Inf Dis* 1998; 178:1516-1520.
34. Shimada, T., Terano, A. Chemokine expression in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *J Gastroenterol* 1998; 33:613-617.
35. Newton, J.L., Jordan, N., Oliver, L., Strugala, V., Pearson, J., James, O.F.W., Allen, A. *Helicobacter pylori* in vivo causes structural changes in the adherent gastric mucus layer but barrier thickness is not compromised. *Gut* 1998; 43:470-475.
36. Ota, H., Nakayama, J., Momose, M., Hayama, M., Akamatsu, T., Katsuyama, T., Graham, D.Y., Genta, R.M. *Helicobacter pylori* infection produces reversible glycosylation changes to gastric mucins. *Virchow Arch* 1998; 433:419-426.
37. Barresi, G., Vitarelli, E., Giuffrè, G., Grosso, M., Tuccari, G. Simple mucin- type carbohydrate antigens in *Helicobacter pylori*- positive chronic active gastritis. *Virchow Arch* 1999; 435:458-459.
38. Su, B., Hellstrom, P.M., Rubio, C., Celik, J., Granstrom, M., Normak, S. Type I *Helicobacter pylori* shows Lewis(b) -independent adherence to gastric cells requiring de novo protheine synthesis in both host and bacteria. *J Inf Dis* 1998; 178:1379-1390.
39. Pilotto, A. *Helicobacter pylori* infection in the elderly. *Clin Ger* 1996; 4:53-70.
40. Peterson, W.L., Graham, D.Y. *Helicobacter pylori*. In: Sleisinger and Fortran's Gastrointestinal and liver disease, 6th edition, 1998. Ed.: Feldman, M., Scharschmidt, B.F., Sleisinger, M.H. W.B.Saunders company, Philadelphia, 604-620.

41. Gisbert, J.P., Boixeda, D., Vila, T., Rafael, L., Redondo, C., Martin de Argila, C. Basal and stimulated gastrin levels and gastric acid output five months after therapy for *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients. *J Clin Gastroenterol* 1996; 22:90-95.
42. Annibale, B., Rindi, G., D Ambra, G., Marignani, M., Solcia, E., Bordi, C., Delle Fave, G. Antral gastrin cell hyperfunction and *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10: 607-615.
43. El-Omar, E., Penman, I.D., Ardil, J.E.S., Chitajallu, R.S., Howie, C., Mc Coll, K.E.L. *Helicobacter pylori* infection and abnormalities of acid secretion in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology* 1995; 108:681-691.
44. Harris, A.W., Gummett, P.A., Misiewicz, J.J., Baron, J.H. Eradication of *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer lowers basal and peak acid outputs to gastrin releasing peptide and pentagastrin. *Gut* 1996; 38:663-667.
45. Louw, J.A., Young, G.O., Lucke, W., Bridger, S., Winter, T.A., Marks, I.N. Basal and pentagastrin stimulated acid secretion in duodenal ulcer subjects before and after *Helicobacter pylori* eradication, a 12-month follow-up study. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30:363-367.
46. Mc Coll, K.L.E., el-Omar, E., Gillen, D. *Helicobacter pylori* induced alterations in gastric acid secretion In: *Pathogenesis and Host Response in Helicobacter pylori Infections*, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag , Bad Hamburg, 119-128.
47. Tani, N., Watanabe, Y., Suzuki, T., Muramatsu, S., Miyazawa, M., Kimura, N., Miwa, T. Effects of inflammatory cytokines induced by *Helicobacter pylori* infection on aminopyrine accumulation in parietal cells isolated from guinea pigs. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 686-690.
48. Sawada, M., Dickinson, C.J. The G cell. *Annu Rev Physiol* 1997; 69:273- 298.
49. Gisbert JP, Boixeda D, Al'Mostafa A, Vila T, Rafael L, Baleriola IA, De Argila CM, Abraira V. Basal and stimulated gastrin and pepsinogen levels after eradication of *Helicobacter pylori*: a 1-year follow up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:189-200, 1999.
50. Sokic A. Gastrin i somatostatin u *Helicobacter pylori* infekciji-klinička, imunohistoheмиjska i elektronsko mikroskopska studija. Magistarski rad, Medicinski fakultet, Beograd, 2000.
51. Tham, T.C, Chen, L, Dennison, N., Johnston, C.F., Collins, J.S., Ardil, J.E.S., Buchanan, K.D. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on antral somatostatin cell density in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10:289-291.
52. Kaneko H, Konagaya T, Kusugami K. *Helicobacter pylori* and gut hormones. *J Gastroenterol* 2002;37(2):77-86
53. Calam, J. *Helicobacter pylori* and somatostatin cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10:281-283.

54. Dixon, M. *Helicobacter pylori* gastritis: pathology and progression. In: Pathogenesis and Host Response in *Helicobacter pylori* Infections, 1997. Ed.: Moran, A.P., O Morain, C.A. Normed- Verlag , Bad Hamburg, 110-119.
55. Itoh, T., Wakatsuki, Y., Yoshida, M., Usui, T., Matsunaga, Y., Kaneko, S., Chiba, T., Kita, T. The vast majority of gastric T-cells are polarized to produce T helper 1 type cytokines upon antigenic stimulation despite the absence of *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol 1999; 34:560-570.
56. Genta, R. *Helicobacter pylori*, inflammation, mucosal damage and apoptosis: pathogenesis and definition of gastric atrophy. Gastroenterology, 1997; 113 (suppl 6): S51-55.
57. Stachura J. Gastric carcinoma risk index in patients infected with *Helicobacter pylori*. Virchows Arch 433:583-585, 1998.
58. Zullo, A., Rinaldi, V., Hassan, C., Lauria, V., Attli, A.F. Gastric pathology in cholecystectomy patients. Role of *Helicobacter pylori* and bile reflux. J Clin Gastroenterol 1998; 27:335-338
59. Tucci, A., Poli, L., Tosetti, C., Biasco, G., Grigioni, W., Varoli, O., Mazzoni, C., Paparo, G.F., Stanghellini, V., Caletti, G. Reversal of fundic atrophy after eradication of *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1998; 93:1425-1431.

ULKUSNA BOLEST I HELICOBACTER PYLORI

Tomica Milosavljević, Miodrag Krstić, Ivan Jovanović

SAŽETAK:

Helicobacter pylori infekcija je glavni uzrok hroničnog aktivnog gastritisa i jedan od glavnih uzročnika aktivne ulkusne bolesti duodenuma (90-95%) i želuca (60-80%), a kad se isključe nesteroidni antireumatici i Zollinger Ellisonov sindrom, onda je učestalost Helicobacter pylori infekcije 100%. Informacije o patogenezi nastajanja inflamacije sluznice želuca, oštećenja sluznice i konačno nastajanja ulkusne niše umnožavaju se poslednjih godina. Pored toga, ozbiljna je mogućnost učešća Helicobacter pylori infekcije u nastajanju B ćelijskog limfoma želuca i intestinalnog tipa karcinoma želuca. Razumevanje međusobnog odnosa bakterije i domaćina, ovekada od ključnog je značaja za razvoj preventivne strategije Helicobacter pylori infekcije i lečenja simptoma bolesti.

Ključne reči: **Helicobacter pylori, ulkusna bolest.**

ABSTRACT

Helicobacter pylori infection is recognized as the cause of chronic active gastritis and as major pathogenic factor in peptic ulcer disease. Helicobacter pylori is present in all patients with chronic active antral gastritis, in 90-95% of those with duodenal ulcer, and in 60-80% patients with gastric ulcer (but nearly 100% when specific etiologies such as nonsteroidal anti-inflammatory drug and Zollinger Ellison syndrome are excluded). Moreover, information about the mechanisms by which infection leads to mucosal inflammation, mucosal damage and predisposes to gastric and duodenal ulcer is rapidly accruing from different research centres. Helicobacter pylori has recently been implicated in the etiology of B cell mucosa associated lymphoid tissue lymphoma and gastric adenocarcinoma. Understanding how Helicobacter pylori interacts with normal function of gastric epithelial cells is key to developing strategies for preventing Helicobacter pylori infection and for treating symptoms.

Key words: Helicobacter pylori, peptic ulcer disease.

Osobnosti bakterije i prirodni tok infekcije

Bakterija poseduje brojne morfološke i funkcionalne karakteristike koje joj omogućavaju da kolonizuje sluznicu želuca i preživi u kiseloj sredini želuca. Jedan od glavnih specifičnih enzimskih mehanizama koji odlikuju Helicobacter pylori je bez sumnje **ureaza**, metalo-enzim koji sadrži nikl, od koga zavisi katalitička aktivnost enzima. Da bi bakterija živela, njoj je neophodno dovoljno jona nikla, pa su joj neophodno intracelularni mehanizmi obezbeđivanja nikla i njegovog daljeg metabolisanja. Genska mapa bakterije je potpuno definisana, i sadrži 1590 gena. Intenzivnim istraživanjima poslednjih godina uspelo je prepoznavanje tri različite intracelularne ATP-aze P tipa, koje su odgovorne za dalji metabolizam metalo-jona. (1)

Pre svega, sam oblik bakterija, posedovanje flagela i brzo kretanje pokretima uvrtnja omogućava brze pokrete unutar mukusnog sloja. Testiranje mutanata na animalnom modelu pokazalo je da sojevi bez flagela imaju mnogo slabiju pokretljivost. Pored toga **flagele** poseduju i antigenu sposobnost bitnu u formiranju imunog odgovora organizma domaćina. Mnoge

enzimske aktivnosti utiču na mukus, sušeci sloj mukusa i pomažući da bakterija dođe brzo i afikasno do svog glavnog cilja – do adhezije za epitelne ćelije, koje su target ćelije za *Helicobacter pylori*. Bakterija se zatim razmnožava i zadržava u tesnom kontaktu sa epitelom, kolonizuje epitel na površini, ali i u nivou tesnih među-ćelijskih veza. (1,2)



Ulkus želuca
(operativni nalaz)

U procesu adhezije bakterije za želudačni epitel **adhezini** su veoma važni jer omogućavaju blizak kontakt sa epitelom. Njihova tačna građa i uloga još uvek nije dovoljno proučena. Posebno je važan afinitet za Lewis b antigen, molekul udružen sa 0 krvnom grupom, što bi dobrim delom moglo da objasni povećan rizik od duodenalnog ulkusa kod osoba sa krvnom grupom 0 u odnosu na grupe A i B. Pored Lewis b antigena, zapaženi su i drugi molekuli kao target mesta adhezije bakterija: fosfatidil-etanol-amin, GM3 ganglioizid, hemaglutinini zavisni od pljuvačne kiseline, hemaglutinini nezavisni od pljuvačne kiseline, laminin u bazalnoj membrani. Istini za volju, veći broj bakterija nalazi se slobodan u mukusnom sloju. (1,2,3)

Lipopolisaharidi predstavljaju fosforilisane glikolipide koji se nalaze u spoljašnjem omotaču Gram-negativnih bakterija, predstavljajući njihove glavne površinske antigene – oni aktiviraju granulocite, monocite i B limfocite. Obično se antitela u imunom odgovoru vezuju za lipopolisaharidne antigene na membrani, dovode do aktivacije komplementa i do lize bakterija. Međutim, u slučaju infekcije *Helicobacter pylori* ovakav scenario se ne ostvaruje i to je značajno za objašnjenje činjenice da *Helicobacter pylori* preživi akutni i hronični inflamatorni odgovor organizma. Naime, bakterija ima lipopolisaharide koji slabije aktiviraju imuni sistem domaćina, a taj mali proinflamatorni potencijal *Helicobacter pylori* objašnjava tendenciju ka hroničnom toku infekcije. 1995. godine je prvi put pokazano da lipopolisaharidi bakterijske membrane poseduju regione u strukturi koji su veoma slični Lewis antigenima krvnih grupa. Lewis X i Y sreću se češće, u 60-74% bakterija, a Lewis A i B antigeni ređe (13% bakterija). Ova sličnost lipopolisaharida membrane bakterija sa Lewis antigenima krvnih grupa mogla bi da bude značajna u nastanku autoimunih fenomena, koji se javljaju povezani sa dugotrajnom infekcijom. (2-4)

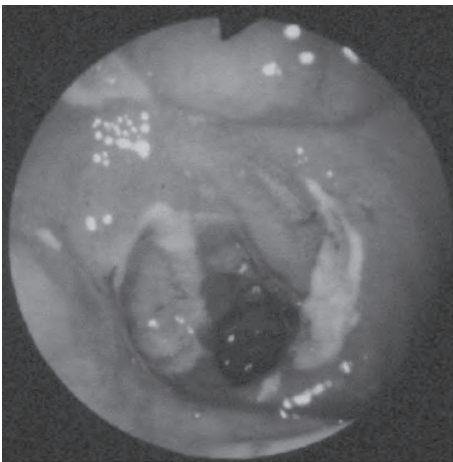
Katalaza i superoksid dismutaza su dva enzima koji omogućavaju bakteriji da se izbori sa oksidativnim metabolitima, nastalim u reakciji polimorfonukleara, koji time pokušavaju da eliminišu bakteriju, toksičnim delovanjem na njenu membranu. Protein koji popravlja rekombinacije (recA) takođe spada u ovu grupu zaštitnika od oksidativnog oštećenja, posebno u uslovima inflamirane mukoze, što izgleda omogućava bakteriji da preživi. (4,5)

Fosfolipaza A2 i C, kao i alkoholna dehidrogenaza predstavljaju toksične enzime po domaćina. Fosfolipaza direktno oštećuje mukoznu barijeru, a indirektno razlažući membranu dovodi do oslobađanja lizolecitina i trombocit-aktivirajućeg faktora što oštećuje mikrocirkulaciju i dovodi do ishemijske nekroze. Alkoholna dehidrogenaza fermentacijom šećera obezbeđuje energiju, potrebnu bakteriji za život, ali se tom prilikom stvara acetaldehid, za koji se pretpostavlja da bi mogao da ima važnu ulogu u remećenju regeneracije epitela. (1,3-5)

Proteolitički enzimi razlažu mukusne glikoproteine i sigurno učestvuju u oštećenju epitela. (6)

Metabolički enzimi na prvi pogled ne deluju direktno u procesu patogeneze oštećenja mukoze, već kompleksnim putevima i mehanizmima obezbeđuju neophodnu energiju, ugljenik i fosfate razgradnjom lipida, ureaza metaboličkim putem ciklusa ureje obezbeđuje dovoljno azota iz citosola prema spoljašnjoj sredini, u kompleksnim uslovima manje kiseonika, a više CO₂. Međutim, izvesni metaloenzimi, koji su metabolički enzimi, na primer katalaza koja sadrži gvožđe i porfirin preuzima gvožđe iz okoline. Bakteriji je gvožđe potrebno i dokazano je 1995.godine da za to služi bakterioferitin koji skladišti gvožđe u ćeliji za potrebe metaboličkih enzima, katalaze i citohroma. Ovaj mehanizam preuzimanja gvožđa iz okolne sredine želuca mogao bi da bude odgovoran za jedan od načina kako nastaje malokrvnost sa manjkom gvožđa u *Helicobacter pylori* infekciji. (6)

Egzotoksini su produkti bakterije koji direktno deluju oštećujući sluznicu želuca. Kod 60% bakterija dokazano je postojanje citotoksične aktivnosti koja se manifestuje vakuolizacijom i degeneracijom ćelija. Ovaj vakuolizirajući citotoksin sintetiše se kao prekursor od 140kDa, a zatim pri prolasku kroz membranu bakterije dobija definitivni monomerni oblik od 94kDa, koji se zatim udruže u veliki heksamer od 700kDa i kao takav toksin ulaze u epitelne ćelije, vezuju se za njihov ATP i time blokiraju oksidativnu fosforilaciju u epitelnim ćelijama. Definitivna posledica je intracelularno nagomilavanje H jona i stvaranje acidoze. Ovo dovodi do vakuolizacije unutar ćelija, koje na kraju zbog poremećaja propustljivosti svoje membrane i pasivne difuzije supstanci spolja, umiru. Do sada je u većini studija pokazano da su *vacA* pozitivni sojevi bakterija odgovorni za nastajanje ulkusne bolesti, atrofičnog gastritisa i karcinoma želuca. (1,2,3,7,8)



Kissing ulkus duodenuma (endoskopski nalaz)

Pored gena za sintezu vakuolizirajućeg egzotoksina, sledeći genotipski marker bakterija je *cagA* gen, i izgleda da je *cagA* gen pokazatelj veće virulentnosti bakterija, tako da prisustvo ovog gena u bakterijama povećava rizik od peptičkog ulkusa i karcinoma želuca. Geografske varijacije prisustva *cagA* pozitivnih sojeva u opštoj populaciji veoma su široke, od 28,2% u Novom Zelandu, 37,9% u Kini, 39% u Holandiji, do 78,8% u Tajlandu i 82,2% u Peruu. (9) Nije sasvim jasno odakle virulentnost *cagA* pozitivnim sojevima, ali je jasno da u infekcijama ovim sojevima kolonizacija je brža i uspešnija, oštećenje epitela izraženije, viši nivo interleukina 8, a i izraženija ekspresija Lewis antigena. Jedna od

hipoteya je da su *cagA* pozitivni sojevi osetljiviji na HCl, pa žive u bližem kontaktu sa epitelom, gde je pH oko 7 i da zato imaju izraženiju interakciju sa domaćinom, dok *cagA* negativni sojevi kao rezistentniji na HCl žive u lumenu, gde je pH oko 2. To bi moglo da objasni činjenicu da ljudi mogu biti istovremeno inficirani *cagA* pozitivnim i negativnim sojevima. (2-4)

Nedavno je otkriven još jedan genski marker, iceA gen (iceA1 i iceA2) – pokazano je da je prisustvo iceA1 gena povezano sa duodenalnim ulkusom.

Mnogi citokini iz oštećenih ćelija, pre svih interleukin-8, privlače polimorfonuklearne granulocite, dakle, počinje akutni inflamatorni odgovor organizma. Akutni gastritis, akutni inflamatorni odgovor organizma dovodi do oslobađanja proteolitičkih enzima i slobodnih kiseoničnih radikala. vrste međucelijske veze pucaju, epitel se menja, postaje skvrčen, menja se oblik ćelija. Ovakve promene tipične su za akutni gastritis. Progresijom bolesti, posle prve dve nedelje, smanjuje se akutna inflamacija, a pojavljuju se monociti i limfociti u zapaljenjskom infiltratu. Pojavljuju se i znaci T i B limfocitnog odgovora. itava zapaljenjska reakcija organizma nije dovoljna da pobedi bakteriju, oštećeni epitel smenjuju nove ćelije iz proliferativne zone, a ovaj proces koji može da traje godinama (hronični gastritis) dovodi do oštećenja mladih ćelija i do atrofije, zatim i do intestinalne metaplazije . Pošto na ovim ćelijama *Helicobacter* ne može da živi, njihov broj se smanjuje kad god postoji intestinalna metaplazija ili odmakla atrofija - " zločinac beži sa mesta zločina. (8-10)

Kao u svakoj infekciji, neizbežan je značaj faktora sredine (higijena, stresovi, navike), faktora domaćina (starost, pol, krvna grupa, predispozicija i td.), kao i osobenosti bakterije (virulencija, patogenost, genske osobenosti i td.). U međusobnoj interakciji ovih faktora dolazi do načina ekspresije infekcije. Najčešće hronični superficijalni gastritis (koji uvek nastaje kao početak prirodnog toka infekcije) kod većine inficiranih osoba ne izaziva simptome, mada predstavlja značajan faktor rizika za nastajanje peptičkog ulkusa želuca i duodenuma. Multifokalni atrofični gastritis povećava rizik od karcinoma želuca, a takođe je nezaobilazan rizik od MALT limfoma .

Infekcija je kao ledeni breg, čiji je nevidljivi deo ispod površine vode u stvari najbrojnija grupa sa asimptomatskim hroničnim superficijalnim gastritisom. U interakciji bakterije, domaćina i sredine važna je činjenica da je *Helicobacter pylori* bakterija sa veoma izraženom heterogenošću sojeva, više nego druge patogene bakterije. Najnovija istraživanja pokazuju da je ta heterogenost stečena evolucijom, ali da se takođe nastavlja i danas- PCR ispitivanja su pokazala da isti soj zarazi porodicu, ali da se zatim počne da razlikuje u toku infekcije, očigledno zavisno od interakcije sa domaćinom. (11-14)

Uloga *Helicobacter pylori* infekcije u inflamaciji sluznice želuca

Kolonizacija želuca *Helicobacterom* uvek je udružena sa inflamacijom sluznice koja se manifestuje nakupljanjem neutrofila, T limfocita, plazmocita, makrofaga, zajedno sa različitim stepenom degeneracije i oštećenja epitelnih ćelija. Mukozni i sistemski humoralni odgovor organizma je višestruk i usmeren na više antigena bakterije, međutim, uprkos in vitro efikasnom delovanju imunih mehanizama (fiksacija komplementa, fagocitoza) u stvarnosti bakterija preživljava akutni i hronični inflamatorni odgovor organizma i nastaje akutni, pa zatim hronični gastritis. Po svojoj prilici je deo odgovora u činjenici da se bakterije nalaze u nišama sluzi i da su time na neki način zaštićene. *Helicobacter* izaziva imuni odgovor na dva načina – ureazna aktivnost sama stimuliše hemotaksu monocita i neutrofila, kao i neki molekuli, porini, PAF-

aceter, intracelularni adhezivni molekul tip 1 (ICAM-1). (10-15) Drugi način je direktnim kontaktom bakterije sa epitelnim ćelijama želuca indukuje se oslobađanje citokina, interleukina 1 beta, IL-2,6,8,10 i TNF (tumor nekrotični faktor). Najvažniji promotor inflamacije je IL-8. Produkti imunog humoralnog odgovora, IgA i IgG antitela naravno mogu da izazovu lizu bakterija, ali oslobađanjem PAF (faktor agregacije trombocita) i komplementa takođe podstiču i epitelno oštećenje i deluju ulcerogeno. (10-15)

Gastritis inače prolazi kroz faze superficijalne inflamacije, preko zahvatanja dubljih glandularnih slojeva, do atrofije sluznice i intestinalne metaplazije. Kod 90-95% osoba sa aktivnim hroničnim gastritisom antralne lokalizacije postoji *Helicobacter* infekcija. (3)

Po Sidnejskoj klasifikaciji gastritisa iz 1990. godine poznajemo tipove gastritisa: akutni, hronični i posebne forme (hipertrofički, reaktivni, limfocitni, granulomatozni i eozinofilni). Po lokalizaciji govorimo o antrumskoj lokalizaciji, korpusnoj, ili pangastritisu. Među morfološkim kriterijumima su: zapaljenje, aktivnost, atrofija, metaplazija, prisustvo *Helicobacter pylori* (broj i gustina kolonizacije). Među etiološkim faktorima najvažniji je svakako *Helicobacter pylori*, a od nemikrobnih faktora su bitni autoimuni, alkoholni, posgastrektomijski, nesteroidni antireumatici, hemijske supstance, kao i idiopatski faktori. (16)

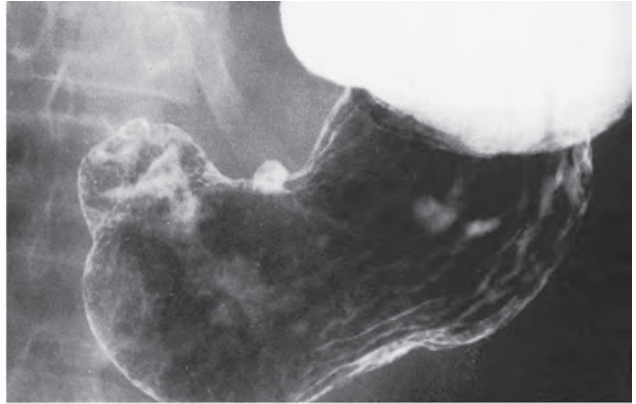
Dopuna Sidnejske klasifikacije iz 1994. godine (Hjuston) korigovan je deo koji se odnosi na histološke kriterijume i sugerisano je da se doda prefiks koji se odnosi na etiologiju, kad god je to moguće. (17)

Hronični aktivni gastritis antralne lokalizacije pojačava rizik od duodenalnog ulkusa, dok korpusna lokalizacija, atrofijom smanjuje sekretorni kapacitet i povećava rizik od gastričnog ulkusa. Aktivna mukozna inflamacija, uz infiltraciju neutrofilima uvek prati *Helicobacter* infekciju, a to dovodi do povećanog oslobađanja gastrina i do pojačane proliferacije ćelija. Povećana proliferacija i povećano oslobađanje slobodnih kiseoničnih radikala povećava rizik od karcinogeneze, a taj efekat infekcije je reverzibilan eradikacionom terapijom. Takođe, atrofični gastritis dovodi do smanjenja sekrecije HCl i do povećanog rizika od nakupljanja mutagenih N-nitroso jedinjenja. U svakom slučaju, varijabilnost kliničkog ispoljavanja infekcije direktno zavisi od varijabilnosti bakterije, ali i od genski determinisane predispozicije domaćina da odreaguje na infekciju na jedan od mogućih načina. (2, 3, 6, 7, 10)

Peptički ulkus i *Helicobacter pylori* infekcija

Kod 95% osoba sa duodenalnim ulkusom i kod 70% pacijenata sa želudačnim ulkusom postoji *Helicobacter pylori* infekcija. Posle kolonizacije želuca (najčešće antruma, ali i korpusa), razvoja epitelnog oštećenja i inflamacije sluzokože dolazi do dosekretornih konsekvenci infekcije. Naime, u početku infekcije, najverovatnije zbog prolaznog zapušanja gastričnih žlezda u korpusnom delu dolazi do privremene hiposekrecije HCl. Potom, dolazi do bazalne i stimulisane hipersekrecije HCl, posebno izraženo kod pacijenata sa duodenalnim ulkusom. Zbog smanjenja sekrecije somatostatina, izazvanog inflamacijom u antrumu dolazi do porasta gastrinemije (jer nema više parakrine

inhibicije somatostatina). Hiper-gastrinemija dovodi do hipersekrecije HCl. Nedavno je pokazano da i neuralni putevi regulacije mogu učestvovati u ovom nastanku kisele hipersekrecije. Hiper-gastrinemija deluje i povećavanjem mase parijetalnih ćelija, zbog svog pozitivnog trofičkog efekta na mukožu. (2, 3)



Ulkus incisurae angularis male krivine želuca (RTG snimak)

Sekretorne posledice infekcije pojačavaju rizik od gastrične metaplazije u bulbusu duodenuma. Na

ostrvcima želučane sluznice u duodenumu dolazi do kolonizacije *Helicobacter pylori* – time je rizik od nastajanja ulceracije povećan 50-60 puta. Posle eradikacije infekcije, tek posle više meseci normalizuje se endokrini sekretacija somatostatina i gastrina, kao i sekrecija HCl.

1989. godine D. Graham je predložio da se klasični postulat Švarca: Nema kiseline.nema ulkusa, dopuni postulatom: Nema *Helicobacter pylori*, nema ulkusa. Međutim, u razumevanju patogeneze ulkusne bolesti postavlja se i pitanje:

Ako postoji *Helicobacter pylori* infekcija, zašto se onda pojavi ulkus

Nekoliko činjenica zaista ističe HP infekciju u prvi plan, kada se razmišlja o etiologiji ulkusne bolesti:

1. Učestalost HP infekcije u duodenalnom ulkusu 92% I želudačnom ulkusu 70%.
2. Ulceracija zarasta pri antibiotskoj terapiji
3. Recidivi ulkusa su ređi ukoliko se izvrši eradikacija HP infekcije, nego kad se ulkus leči samo H2 antagonistima
4. Recidivi su uvek udruženi sa HP infekcijom. U populacijama sa veoma niskom učestalošću javljanja ulkusne bolesti među Aboridžinima u severozapadnoj Australiji nema ni HP infekcije.

Nasuprot evidentnim potvrdama uloge HP u patogenezi peptičkog ulkusa, čitav problem može se posmatrati i sa druge strane:

1. Ulkusna bolest javlja se samo u 12-13% svih osoba inficirani HP.
2. Operativno lečenje (vagotomija, resekcija) može da izleči ulkus, čak i ako se ne leči HP infekcija
3. Medikamtna terapija usmerena na inhibiciju HCL dovodi do izlečenja ulkusa i bez izlečenja HP infekcije
4. Duodenalni ulkus češći je kod muškaraca, a HP infekcija se javlja podjednako kod žena i muškaraca.
5. HP infekcija češća je kod starijih osoba, a duodenalni ulkus se češće javlja kod mlađih osoba.

6. Ulceracija zarasta i spontano, bez HP eradikacije.

7. Hipersekrecija želudačne HCL može da dovede do javljanja ulceracije i bez HP infekcije.

8. Napokon, Kohov postulat nije potvrđen na primeru duodenalnog ulkusa. Naime, Marshall je na sebi samom, popivši kulturu HP dokazao nastanak akutnog antralnog gastritisa, ali ne i duodenalnog ulkusa. Prema tome, duodenalni ulkus ne može se smatrati klasičnom infektivnom bolešću.

Moglo bi se reći da u shvatanju patogeneze ulkusne bolesti *Helicobacter pylori* predstavlja novi pogled, ne potirući značaj uloge balansa odbrambenih i agresivnih faktora, koji su do sada bili način razumevanja patogeneze peptičkog ulkusa. Infekcija je novi, pravi ključ.

U nastajanju duodenalnog ulkusa najvažniji faktori su HCl, pepsin, pušenje, alkohol – činioci zajednički i za želudačni ulkus. Specifični faktori u patogenezi duodenalnog ulkusa su sniženje sinteze endogenih prostaglandina, smanjena postprandijalna produkcija prostaglandina u duodenalnoj sluznici, povećano postprandijalno oslobađanje gastrina, povećana produkcija histamina regulisana vagusnim mehanizmima, kao i ubrzano pražnjenje želuca sa sniženjem pH u bulbusu duodenuma.

Od specifičnih faktora patogeneze želudačnog ulkusa treba istaći usporeno pražnjenje sa produženim kontaktom sadržaja želuca i sluznice, refluks ulcerogenih žučnih soli iz duodenuma, nesteroidna antiinflamatorna sredstva koja smanjuju produkciju prostaglandina. (2)

Glavni argument u prilog ključnoj ulozi *Helicobacter pylori* infekcije u 95% duodenalnog i 70% želudačnog ulkusa je dugotrajno bolja prognoza peptičkog ulkusa posle eradikacione terapije – 10 puta je manji rizik od recidiva ulkusa posle izlečenja infekcije. (3,11) Pored nesumnjive i veoma važne etiološke uloge *Helicobacter pylori* infekcije u nastajanju peptičkog ulkusa, precizni mehanizmi puta od kolonizacije bakterija, preko inflamacije, do procesa ulceracije tek su na početku razjašnjenja.

LITERATURA

1. Hazell SL, Mendz GL. How *Helicobacter pylori* Works: An Overview of the Metabolism of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1997;2(1):1-12.
2. McColl KEL. Pathophysiology of duodenal ulcer disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9(Suppl 1): S9-S12.
3. Peek RM, Blaser MJ. Pathophysiology of *Helicobacter pylori*-induced Gastritis and Peptic Ulcer Disease. *Am J Med* 1997; 102:200-207.
4. Jovanović I. Klinička studija povezanosti *Helicobacter pylori* infekcije i sindroma gornje dispepsije. Magistarski rad, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 1998.
5. Appelmelk BJ, Negrini R. *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity. *Curr Opin Gastroenterol* 1997;13:31-34.
6. Atherton J, Covacci A. *Pathogenic properties of Helicobacter pylori*. *Curr Opin Gastroenterol* 1997;13:20-24.

7. Atherton JC, Peek RM, Tham KT, Cover TL, Blaser MJ. *The clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, encoding the vacuolating cytotoxin of Helicobacter pylori.* Gastroenterology 1997, 112:92-99.
8. Blaser MJ. *Role of vacA and the cagA locus of Helicobacter pylori in human disease.* Aliment Pharmacol Ther 1996, 10 (suppl 1): 73-77.
9. Moran AP. *The role of lipopolysaccharide in Helicobacter pylori pathogenesis.* Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (suppl. 1): 39- 50.
10. Bamford KB, Andersen L. *Host response.* Curr Opin gastroenterol 1997;13:25-30.
11. Asaka M, Kato M, Kudo M, Katagiri M, Nishikawa K, Koshiyama H, Takeda H, Yoshida JI, Graham DY. *Atrophic changes of gastric mucosa are caused by Helicobacter pylori infection rather than aging: studies in asymptomatic Japanese adults.* Helicobacter 1996;1:52-56.
12. Crabtree JE. *Gastric mucosal inflammatory responses to Helicobacter pylori.* Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (Suppl. 1): 29- 37.
13. Moran AP. *Pathogenic properties of Helicobacter pylori.* Scand J Gastroenterol 1996;31 suppl 215:22-31.
14. Niluis M, Maleftheiner P. *Helicobacter pylori enzymes.* Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (suppl. 1): 65- 71.
15. Crabtree JE. *Immune and inflammatory responses to Helicobacter pylori infection.* Scand J Gastroenterol 1996;31 Suppl 215:3-10.
16. Misiewicz JJ. *The Sydney System: a new classification of gastritis.* J Gastroenterol Hepatol 1991; 6: 207- 208.
17. Dixon MF, Path FRC, Genta RM, Yardley JH, Correa P and the participants in the international workshop on the histopathology of gastritis, Houston 1994. *Classification and Grading of gastritis (The Updated Sydney System).* Am J Surg Pathol 1996;20 (10):1161-1181.

HELICOBACTER PYLORI I MALIGNITET ŽELUCA

Milenko Uglješić

SAŽETAK

U većine osoba imuni odgovor domaćina ne uspeva da eliminiše *Helicobacter pylori* infekciju te postoji postupna akumulacija hroničnih inflamatornih ćelija u inficiranu mukozu i kao posledica akutnog neutrofilnog gastritisa razvija se aktivni hronični gastritis. Kod nekih inficiranih osoba se razvija antrum predominantni hronični gastritis pa su ove osobe sklone da dobiju duodenalni ulkus. Veći stepen inflamacije antruma kombinovan sa hiperaciditetom stvara predispoziciju za prepilorično i duodenalno oštećenje. Obrnuto, prisustvo inflamacije u korpusu čini parijetalne ćelije manje senzitivnim na gastrin, a kisela sekrecija ostaje normalna ili snižena. Pro-inflamatorni *H.pylori* sojevi će izazvati glandularnu atrofiju, a dugotrajno oštećenje povećava rizik od nastanka proksimalne gastrične ulceracije. Pro-inflamatorni polimorfizam interleukin-1 beta gena omogućava nastanak hipohlohidrije i atrofije na terenu koje nastaje karcinom želuca. *H.pylori* infekcija dovodi do pojačane produkcije reaktivnih kiseoničnih metabolita (ROM) i uzrokuje gastrični mukozni oksidativni stres. U oblastima gde hrana sadrži neadekvatne količine antioksidanasa kao što su vitamini C i E i beta-caroten, ROM mogu uzrokovati DNA oštećenje i genske mutacije ras-familije proto-onkogeni i p53 tumor supresor gena. Suplementacija dijetnih antioksidanasa može neutralizovati ove toksične metabolite. U pacijenata sa gastričnom atrofijom/intestinalnom metaplazijom sa visokim pH (>4), povećana je proizvodnja N-nitroso jedinjenja (NOC) pomoću želudačnih bakterija uključujući i *H.pylori*. NOC i ROM se nalaze u velikoj koncentraciji u gastričnom lumenu i gastričnoj mukozii što postupno dovodi do oštećenja DNA i gastrične karcinogeneze. U nekih osoba *H.pylori* infekcija može dovesti do nastanka limfoma. Nisko-stepena B ćelijska monoklonska proliferacija je antigen zavisna, i eradikacija *H.pylori* može dovesti do regresije limfoma. Transformacija do visoko-stepenog limfoma odražava antigensku nezavisnost, pa eradikacija *H.pylori* nema efekta na autonomnu proliferaciju.

Cljučne reči: *Helicobacter pylori*, karcinom želuca.

ABSTRACT

In the majority of individuals, the host immune response fails to eliminate *H.pylori* infection, there is a gradual accumulation of chronic inflammatory cells in the infected mucosa and as a consequence acute neutrophilic gastritis gives way to active chronic gastritis. A proportion of infected subjects develop antral- predominant chronic gastritis, and these individuals are prone to develop duodenal ulcers. A greater degree of inflammation of the antrum combined with hyperacidity predispose. In contrast, the presence of inflammation in the corpus renders the parietal cells less sensitive to gastrin and their acid output remains normal or low. Pro-inflammatory *H.pylori* strains will exacerbate glandular atrophy and long standing damage increases the risk of proximal gastric ulceration. In particular, pro-inflammatory polymorphisms of the interleukin-1 beta gene favour the development of hypochlohydria and atrophy, and consequently gastric cancer. Inflammation induced by *H. pylori* leads to enhanced production of reactive oxygen metabolites (ROM) and causes gastric mucosal oxidative stress. In areas where diets contain inadequate antioxidants such as vitamins C and E and beta-carotene, ROM may cause DNA damage and gene mutations of ras-family proto-oncogenes and the p53 tumor suppressor gene. Supplementation of dietary antioxidants may neutralize these toxic ROM. In patients with gastric atrophy/intestinal metaplasia with high gastric pH (>4), the production of N-nitroso compounds (NOC) is enhanced by gastric bacteria, including *H.pylori*. NOC and ROM both in the gastric lumen and within gastric mucosa are at high concentrations; this would gradually lead to DNA damage and gastric carcinogenesis. In some subjects *H.pylori* infection may lead to the development of lymphoma. In low-grade B-cell lymphoma monoclonal proliferation is antigen-dependent and eradica-

tion of *H.pylori* can lead to regression, whereas transformation to high-grade lymphoma reflects antigen-independence and such autonomous proliferation is not affected by *H.pylori* eradication.

Key words: *Helicobacter pylori*, gastric cancer.

HELICOBACTER PYLORI I MALIGNITET ŽELUCA

Karcinom želuca je drugi najčešći solidni maligni tumor. Incidencija distalnog karcinoma u želucu je u opadanju, dok je incidencija adenokarcinoma proksimalnog dela i gastroezofagealnog prelaza u porastu.

Gastrična karcinogeneza je višestepeni i multifaktorijalni proces u kome su mnogi faktori uključeni, kao što su dob života, autoimuni faktori, malnutricija i hronična inflamacija, ili ponavljano izlaganje žuči, aspirinu, alkoholu i natrijum hloridu. *Helicobacter pylori* infekcija je glavni uzrok *gastritisa* koji je povezan sa razvitkom karcinoma u želucu. Skoro je pokazano na animalnom modelu (jedna vrsta mongolijanskih glodara) da *H.pylori* infekcija izaziva nastanak karcinoma želuca kome prethodi serija mukoznih premalignih promena kao što su *atrofija*, *metaplazija* i *displazija* (1). Veruje se da poremećaji u ćelijskom turnoveru predstavljaju predispoziciju u gastričnoj karcinogenezi. Zapravo, nađena je znatno veća stopa proliferacije u gastričnim epitelnim ćelijama kod inficiranih pacijenata u odnosu na one bez infekcije.

Kolonizirane bakterije oslobađaju brojne aktivne hemotaktičke faktore koji penetrišu kroz oštećen površni epitel i indukuju emigraciju polimorfonuklearnih granulocita u laminu propriu i epitel. Bakterijski produkti takođe aktiviraju mast ćelije čijom degranulacijom se oslobađaju medijatori akutne inflamacije koji povećavaju vaskularnu permeabilnost, povećavaju ekspresiju leukocitnih adhezionih molekula na endotelnim ćelijama kao i emigraciju polimorfonukleara. *H.pylori* stimuliše gastrični epitel da proizvodi potentni neutrofilni hemokin, interleukin-8 pod dejstvom tumor nekroznog faktora-alfa (TNF-alfa) i interleukina-1 (IL-1) koji se oslobađaju iz makrofaga kao odgovor na bakterijski lipopolisaharid (2). Ova faza *akutnog gastritisa* kratko traje. U manjem broja ljudi dolazi do spontane restitucije mukoze i iščezavanja infekcije, dok u većine imuni odgovor domaćina ne uspeva da eliminiše infekciju te dolazi do postupne akumulacije hroničnih inflamatornih ćelija. Dolazak limfocita i plazma ćelija u mukozi pojačava akutni inflamatorni odgovor produkcijom citokina i specifičnih anti-*H.pylori* antitela. Proliferacija B ćelija i diferencijacija plazma ćelija rezultira u sintezi IgM opsonirajućih i komplement fiksirajućih antitela koji pojačavaju inflamatornu reakciju. Međutim, ni ovaj odgovor ne uspeva da eliminiše infekciju i dalje prisustvo *H.pylori* dovodi do druge linije odgovora koja podrazumeva regrutovanje primarnih B ćelija u limfoidne folikule sa produkcijom plazma ćelija mukoznih protektivnih IgA antitela; i ovaj odgovor je nedovoljan za eradikaciju *H.pylori*, pa se u većine osoba pod stalnom antigenom stimulacijom stvaraju folikuli kao konzistentna slika *hroničnog H. pylori gastritisa* (3).

Akutni inflamatorni i hronični imuni odgovori su pod dejstvom T-helper ćelija - Th1 ćelije izazivaju inflamaciju, a preko aktiviranih CD8+ T ćelija dolazi do stvaranja autoantitela i do oštećenja epitela preko celularnog imunog odgovora, dok su Th2 odgovorne za humoralni, sekretorni imuni odgovor (4).

Većina osoba sa *H.pylori* gastritisom pokazuje *difuznu hroničnu inflamaciju* koja zahvata i *antrum* i *korpus*. Kod manjeg broja inficiranih razvija se značajan gastritis u antrumu sa manjom inflamacijom korpusa, tkz. *antrum predominantni* hronični gastritis dovodeći do pojačane kisele sekrecije i rizika za nastanak duodenalnog ulkusa. U drugih osoba infekcija izaziva i *antralni* i *korpusni* gastritis bez promena u kiseloj sekreciji. U trećoj grupi osoba infekcija izaziva *korpus predominantni* gastritis sa teškom inhibicijom kisele sekrecije ili kompletnom ahlorhidrijom. U prvoj grupi povećana kiselaa sekrecija je posledica povećanog slobađanja gastrina iz G ćelija antruma i povećanog kiselog odgovora korpusne mukoze na gastrinsku stimulaciju. Povećan kiselinski odgovor nastaje zbog većeg broja parijetalnih ćelija (nasleđe!)-hiperparijetalizma i odsustva korpusnog gastritisa koji smanjuje kiselu sekretornu funkciju. Kod korpus predominantnog gastritisa postoji takođe hipergastrinemija, ali i smanjena kiselaa sekrecija zbog relativno manjeg broja parijetalnih ćelija, ali i zbog smanjenog funkcionalnog odgovora u inflamiranoj mukozi korpusa. Hronična hipohlorhidrija ili ahlorhidrija predstavlja povećan rizik za nastanak karcinoma želuca. Odnosno, karcinom želuca se češće javlja na terenu korpus predominantnog gastritisa i prisutnom atrofijom i intestinalnom metaplazijom. Moguće je da je nastanak korpus predominantnog gastritisa i posledične hipohlorhidrije posledica autoimunog odgovora na bakteriju. Naime, zapaženo je da antitela na *H.pylori* unakrsno reaguju sa antigenima na protonskoj pumpi parijetalnih ćelija dovodeći do inhibicije kisele sekrecije i nastanka korpus gastritisa koji dalje smanjuje kiselu sekretornu funkciju (5).

Drugo objašnjenje je da *H. pylori* stimuliše produkciju pro- inflamatornog citokina interleukina-1beta /IL-1beta/ koji je snažan inhibitor kisele želudačne sekrecije, 100 puta je snažniji od inhibitora protonske pumpe. Ovaj citokin inhibiše biološke funkcije i ECL i parijetalnih ćelija preko inducibilne azot- oksid sintaze /iNOS/ i azot oksida /NO/. Interleukin-1 beta indukuje apoptozu ECL celija aktivišući nuklearni factor-kB (NF-kB), iNOS i proapoptičkog Bax proteina (6).

Zašto *H.pylori* infekcija izaziva različite oblike bolesti? Dva su objašnjenja:

Prvo, da su u pitanju *različiti sojevi* *H.pylori*, i drugo, da postoje različita *genetska determinisanost* odgovora domaćina na infekciju.

Cag A+ sojevi ne determinišu da li će osobe razviti hipersekretorni ili hiposekretorni odgovor na infekciju, odnosno on predstavlja povećan rizik da osobe sa *H.pylori* infekcijom dobiju ili duodenalni ulkus ili gastrični kancer preko atrofije i metaplazije (7).

Glavni kandidat za genetski determinisan odgovor bi mogao biti interleukin -1 gen, odnosno pro- inflamatorni polimorfizan interleukin-1 gena. Gastrični kancer sa hipohlorhidrijom ima značajno višu frekvenciju pro-inflamatornog IL-1RN 2 alela i T-T haplotip IL-1beta-31 i IL-1beta-511 u poređenju sa onim bez hipohlorhidrije (8).

U osoba sa *H.pylori* infekcijom terapija sa inhibitorima protonske pumpe transformiše antrum predominantni gastritis u korpus predominantni gastritis. Stepem inhibicije kisele želudačne sekrecije ovim inhibitorima u *H.pylori* pozitivnih osoba je znatno izraženiji / intragastrični pH-7/ nego u neinficiranih /pH-3.5/ (9). Dugotrajna terapija inhibitorima

H. Pylori infekcija - Mukozna inflamacija	
IL-1 beta pro-inflamatorni gen	
DA	NE
Hipohlohidrija	Normalna ili povišena kisela sekrecija
Korpus predominantni gastritis	Antrum predominantni gastritis
Atrofični gastritis	Duodenalni ulkus ili bez oboljenja
Karcinom	

protonske pumpe u H.pylori pozitivnih osoba može predisponirati u nastanku karcinoma želuca preko korpus predominantnog gastritisa sa hipohlohidrijom ili ahlorhidrijom i progresijom gastrične atrofije, intestinalne metaplazije i displazije, mada neke kasnije kontrolisane studije nisu potvrdile ovu hipotezu (10).

Atrofija može biti posledica direktnih efekata H.pylori, /npr. citotoksin, fosfolipaza, amonijak/, ili je posledica odgovora domaćina na infekciju. Reaktivni kiseonični metabolite mogu izazvati glandularnu destrukciju direktnim oštećenjem specijalizovanih sekretornih ćelija ili razaranjem stem ćelija i zamenom glandularnog epitela

Neki faktori okoline mogu značajno uticati na tok H.pylori infekcije. Zapaženo je da je veliki unos soli značajan rizik faktor u gastričnoj karcinogenezi. Verovatno da velika količina soli utiče na nastanak korpus predominantnog gastritisa u pacijenata sa H.pylori infekcijom što dovodi do gastrične kisele hiposekrecije i povećanog rizika za gastrični kancer. H.pylori infekcija je determinisana interakcijom različitih faktora koji uključuju genetske faktore, bakterijske faktore i faktore okoline i dijeta (11).

Multidisciplinarnim istraživanjem uočeno je da mali unos svežeg voća i povrća predstavlja povećan rizik za epitelni karcinom zbog smanjene koncentracije antioksidanata kao što su vitamin C, E i beta- karoten. Ovi antioksidanti redukuju stvaranje *N-nitrozo jedinjenja (NOC)* i čiste *reaktivne kiseonične metabolite (ROM)*, ali i utiču na gastričnu ćelijsku proliferaciju direktno ili kroz antioksidantne aktivnosti. U H.pylori infekciji postoji znatno smanjena gastrična koncentracija ovih antioksidanasa (12).

H.pylori infekcija i gastrični mukozni oksidativni stres

H. pylori infekcija indukuje znatnu infiltraciju gastrične mukoze inflamatornim celijama, kao što su neutrofilni i monociti koji sintetišu i oslobađaju velike količine ROM koji su jako toksični i mogu uzrokovati oštećenje svih ćelijskih struktura uključujući strukturne i regulatorne proteine, karbohidrate i DNA (mutacije, delecije, insercije, rearanžmane). ROM su jedna od najznačajnijih grupa humanih karcinogena. Ras familija proto-onkogena i p53 tumor supresor

gen su najznačajniji geni u humanoj karcinogenezi uključujući i gastrični adenokarcinom. ROM izazivaju pogrešnu replikaciju 8-hydroxy-deoxyguanosina koji uzrokuje transverziju G—T u srednjoj poziciji kodona 12 Ki-ras i H-ras proto-onkogeni, ali i pojačava deaminaciju 5-methyl-cytosina, zajedno sa NO čiju sintezu stimuliše H.pylori. Ova deaminacija izaziva mutacije na p53 tumor supresor genu na kodonu 248 (CGG) koje se sastoje od tranzicije C—T i G—A na CpG dinukleotid sekvenci (13, 14, 15, 16).

Humana tkiva imaju dva izvora antioksidanasa: endogeni i egzogeni -dijetni. Endogeni antioksidansi su superoxid dismutasa (SOD), catalasa, glutathione peroxidasa i redukovani glutation (GSH), a egzogeni su vitamini C, E i beta-karoten. Askorbinska kiselina i alfa-tocopherol su najznačajniji hidrofilični i lipofilični antioksidansi. Beta-karoten ima slabiju reaktivnost prema kiseoničnim radikalima nego alfa-tocopherol.

Disbalans između ROM i antioksidanasa zbog hiperprodukcije slobodnih radikala (O_2 , H_2O_2 , HOCL, peroxy radikali) u inflamiranoj sluznici sugeriraju na značaj dijetne suplementacije antioksidanasa.

Druga grupa karcinogeni su *N-nitroso jedinjenja* (NOC) koja nastaju reakcijom nitrita, posle redukcije nitrata u nitrite, sa aminima i amidima. Ova konverzija se odigrava u kiselj sredini (pH<4), a brzina nitrozacije zavisi od koncentracije nitrite. Ovo naročito može biti značajno pri većem unosu dijetnih nitrata i manjem unosu antioksidanasa. Snižene vrednosti gastričnih antioksidanasa, naročito askorbinske kiseline u želudačnom soku, mogu omogućiti povećanu produkciju NOC i povećati rizik od nastanka karcinoma želuca. H.pylori u kiselj sredini ne igra značajnu ulogu u nitrozaciji, čak u takvim uslovima nitriti inhibišu rast H.pylori. Međutim, u uslovima sa višim pH (>4) produkcija NOC je znatno olakšana pod dejstvom bakterija uključujući i H.pylori. Pod ovakvim uslovima redukcija nitrata u nitrite postaje daleko najvažniji izvor nitrite

Vitamin C je kiseli molekul sa jakom reduktivnom aktivnošću, a zbog odsustva L-gulonolactone oxidase, ključnog enzima u sintezi vitamina C, ljudi ne mogu da ga sintetišu. Smanjen unos vitamina C hranom je udružen sa povećanim rizikom za gastrčni kancer, odnosno pacijenti sa gastrčnim kancerom imaju niže vrednosti C vitamina u plazmi. Međutim, nije nađena udruženost H.pylori i vrednosti C vitamina u plazmi, ali pušenje cigareta negativno utiče na njegovu vrednost u plazmi. Vitamin C ima dve forme : ascorbinska kiselina i dehidroascorbinska kiselina /DHA/. Gastrična mukoza i gastrčni sok sadrže više vitamina C nego plazma. Njegovo prisustvo u želucu može imati značajnu ulogu u redukciji NOC i neutralizaciji ROM. U gastrtitisu je znatno smanjena sekrecija vitamina C, a samim tim i redukovana njegova koncentracija u gastrčnom soku.

Ona se ponovo vraća na normalne vrednosti posle eradikacije H.pylori infekcije.

Intragastrični pH i težina kao i ekstenzivnost gastrtitisa utiču na koncentraciju C vitamina u želudačnom soku. Ako je pH veće od 4 ascorbinska kiselina je vrlo nestabilna i oksidiše se do DHA ili ireverzibilno konvertuje do 2,3-diketogulonične kiseline čime se gubi vitaminska aktivnost. Kod difuznog antralnog gastrtitisa vrednost C vitamina u gastrčnom soku je normalna, dok je kod pacijenata sa pangastritisom značajno niža, kao i

u stanjima atrofije i intestinalne metaplazije. Nađeno je da DHA sama ili u kombinaciji sa vitaminom B12 može snažno inhibisati tumorsku mitotičnu aktivnost bez inhibicije aktivnosti normalnih fibroblasta.

Oxidasa *H.pylori* cag A+ znatno redukuje vrednost C vitamina u gastričnom soku, što može doprineti povećanom riziku od gastričnog kancera. Ovo je značajno i sa aspekta farmakološki indukovane hipohlorhidrije na odnos askorbat/nitriti u gastričnom soku. Zapravo, tretman sa inhibitorima protonske pumpe može povećati rizik od gastričnog kancera povećanjem gastrične koncentracije nitrita i smanjivanjem koncentracije vitamina C u gastričnom soku. Ovo je naročito značajno u pacijenata sa *H.pylori* infekcijom.

Vitamin E je liposolubilni vitamin, značajan antioksidans, uključuje osam jedinjenja podeljenih u dve klase kao tocopheroli i tocotrienoli. Alfa-tocopherol ima najveću biološku aktivnost i najčešće je dostupna forma vitamina E u hrani.

On stabilizuje membrane i sprečava oksidativno oštećenje i štiti kritične celularne strukture od ROM i reaktivnih produkata lipidne peroksidacije unutar biomembrana. On takođe reaguje sa nitritima u želucu inhibišući nitrozaciju. *H.pylori* nema efekta na vrednosti vitamina E u plazmi. Međutim, pacijenti sa *H.pylori* infekcijom imaju značajno niže vrednosti vitamina E u mukozi želuca u poređenju sa neinficiranim pacijentima, dok su koncentracije u gastričnom soku neizmenjene. Mukozne koncentracije alfa-tocopherola postupno opadaju kako proces progredira od normalne mukoze do gastritisa i najzad do atrofije i intestinalne metaplazije. Time se postupno gubi i protektivna uloga vitamina E od oksidativnog stresa i procesa nitrozacije.

Postoji nekoliko stotina *karotenoida* u prirodi, a samo 10% su provitamini sa aktivnošću vitamina A. *Beta-caroten* je naj snažniji i efikasno konvertovan do provitamina A karotenoida u voću i povrću. On neutralizuje aktivne ROM koji potiču od oksidativnog stresa kao što su pušenje cigareta i inflamacija, ali i iz normalnog ćelijskog metabolizma. Beta-caroten je manje potentan kao antioksidans od alfa-tocopherola jer je i slabije reaktivan prema peroxy radikalima nego alfa-tocopherol. Beta-caroten poseduje i neke imunomodulatorne efekte kod određene vulnerabilne grupe ljudi.

Ne postoji udruženost između *H. Pylori* infekcije i serumskih vrednosti beta-carotena, dok je koncentracija beta-carotena u gastričnom soku smanjena u pacijenata inficirani sa *H.pylori* kao i u onih sa gastričnom atrofijom i intestinalnom metaplazijom. Anti-karcinogeni efekat beta-carotena bi mogao biti veoma značajan u zemljama u razvoju gde su dijetni rizik faktori i *H.pylori* infekcija česti.

Antioksidantna odbrana je značajno oslabljena u dugotrajnoj *H.pylori* infekciji, kod visokog gastričnog pH i u nastaloj gastričnoj atrofiji/metaplaziji (17).

Od premalignih promena u želucu se sreću atrofija, intestinalna metaplazija i displazija koje mogu dovesti do nastanka epitelnih tumora, npr. adenokarcinoma, a koja se mogu otkriti i pratiti sa uveličavajućim (magnifying) endoskopima uz hromoendoskopske tehnike, i *lezije* koje predstavljaju osnovu u genezi *marginal zone lymphoma*, poznat kao mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma.

Normalna gastrična mukoza može sadržati razbacane limfoidne agregate lokalizovane u bazi antralne ili oksintične mukoze, ali limfoidni folikuli sa germinalnim centrima su odsutni ili izuzetno retki. H.pylori infekcija izaziva stvaranje limfoidnih folikula sa jasno definisanim germinalnim centrima i perifernom (mantle) zonom od plazma ćelija i limfocita. Limfoidni folikuli mogu biti prominentni, a njihovi periferni elementi (B-ćelije) mogu odlaziti u gastrični epitel i formirati komplekse—*limfoepitelne lezije*, karakteristične za MALT limfom. Monoklonska populacija B ćelija je stalno stimulirana od H.pylori senzibilisanih T ćelija. Za izvesno vreme ove monoklonske populacije se razvijaju u stanje “uslovne besmrtnosti” čije preživljavanje zavisi od prisustva T ćelija senzibilisanih H.pylori infekcijom. Ovo je stanje kada se ovi limfomi mogu lečiti eradikacijom H.pylori. Vremenom T ćelijska zavisnost opada, a limfoidna proliferacija stiče nezavisnu neoplastičnu prirodu koja karakteriše maligne limfome. Većinu ovih limfoma karakteriše sporiji rast i dobra diferencijacija (low-grade); retko neki od njih pretrpe proces dediferencijacije koji vodi do formiranja visokog stepena (high-grade) malignih limfoma koji diseminuju u okolne i udaljene limfne noduse i eventualno u druge organe (18,19,20).

Posle eradikacije H.pylori postiže se kompletna remisija u oko 60-93% low-grade MALT limfoma koji infiltriraju samo mukoza i submukoza, a što se može uspešno pratiti endoskopskom ultrasonografijom i PCR tehnikom, uz očekivan relaps od 5% godišnje. Opisani su pojedinačni slučajevi gde je posle eradikacije H.pylori došlo do kompletne regresije high-grade MALT limfoma. U jednoj studiji je zapaženo da se MALT limfom češće javlja u slučajevima *H. heilmannii* (ranije *Gastrospirillum hominis*) gastritisa u poređenju sa H.pylori gastritisom (21,22,23,24).

Nekoliko meseci posle eradikacije H.pylori dolazi do smanjenja u veličini i broju limfoidnih folikula u gastričnoj mukozi, a posle nekoliko godina, veruje se da većina tih folikula iščezava. Lečenje H.pylori infekcije izaziva regresiju barem jednog tipa premaligne lezije, smanjujući, a možda i eliminišući rizik za nastanak primarnog gastričnog MALT limfoma.

LITERATURA

1. Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. Helicobacter pylori infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology*. 1998; 115: 642-8.
2. Crabtree J. Immunopathological aspects of Helicobacter pylori associated injury of the gastric mucosa. *Mol Med* 1994;31:1340-48.
3. Dixon FM. Helicobacter pylori gastritis: pathology and progression. In : Moran PA, O Morain AC. Pathogenesis and Host Response in Helicobacter pylori Infections. 1997;110-118.
4. Ernst PB, Jin Y, Navarro J et al. Overview of the immune response to H.pylori. In : Hunt RH, Tytgat GNJ, eds. Helicobacter pylori : Basic Mechanisms to Clinical Cure. Dordrecht, The Netherlands:mKluwer Academic Publishers 1994;295-305.
5. Negrini R, Savio A, Poesi C et al. Antigenic mimicry between Helicobacter pylori and gastric mucosa in the pathogenesis of body atrophic gastritis. *Gastroenterology* 1996;111:655-665.

6. Mahr S, Neumayer N, Gerhard M, Classen M, Prinz C. IL-1 beta induces apoptosis in rat gastric enterochromaffin-like cells is mediated by iNOS, NF-kappaB, and Bax protein. *Gastroenterology* . 2000;118:515-24.
7. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing CagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995;55:2111-15.
8. Santilla S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN2) is associated with enhanced IL-1 beta production in vitro. *Scand J Immunol*. 1998;47:195-8.
9. Gillen D, Wirz A, McColl KEL. Degree of suppression of gastric acid secretion by omeprazole is related to *H.pylori* status. *GUT* 1997;40 (Suppl 1):A1.
10. Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg EC et al. Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with omeprazole or fundoplication. *N Engl J Med* 1996;334:1018-1022.
11. McColl KLE, El-Omar E, Gillen D. *Helicobacter pylori* –induced alterations in gastric acid secretion. In: Moran PA, O Morain AC. *Pathogenesis and Host Response in Helicobacter pylori Infections* 1997 :119-127.
12. Weitberg AB, Corevese D. Effect of vitamin E and beta-carotene on DNA strand breakage induced by tobacco-specific nitrosamines and stimulated human phagocytes. *J Exp Clin Cancer Res*. 1997;16:11-14.
13. Hirohashi S, Sugimura T. Genetic alterations in human gastric cancer. *Cancer Cells*. 1991;3:49-52.
14. Tsuji S, Tsujii M, Sun WH et al. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *J Clin Gastroenterol*. 1997;25 (Suppl 1):S186-97.
15. Ohshima H, Bartsch H. Chronic infection and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res*. 1994;305:253-64.
16. Forrester K, Ambs s, Lupold SE et al. Nitric oxide-induced p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild –type p53. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:2442-7.
17. Zhang ZW, Farthing GJ. *Helicobacter pylori* in gastric malignancy : role of oxidants, anti-oxidants and other co-factors. In:Hunt RH, Tytgat GNJ. *Helicobacter pylori, Basic Mechanisms to Clinical Cure* 2000: 513-524.
18. Issacson PG. Gastric lymphoma and *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med*. 1994;330:1310-11.
19. Issacson PG. Gastric MALT lymphoma : from concept to cure. *Ann Oncol*. 1999; 10:637-45.
20. Issacson PG, Spencer J. The biology of low-grade MALT lymphoma . *J Clin Pathol*. 1995;48:395-7.
21. Yamashita H et al. Histological features of low-grade MALT lymphoma showing complete regression after *Helicobacter pylori* eradication and prediction time of its effectiveness-the value of clinical typing based on endosonographic findings. *Stomach Intest*. 1999;34:389-96.

22. SuekaneH et al. Clinical course and practical guideline after eradication of *Helicobacter pylori*-the value of clinical typing based on endosonographic findings. *Stomach Intest.* 1999;34:1397-409.
23. Morgner A, Lehn N, Andersen LP et al. *Helicobacter heilmannii* –associated primary gastric low-grade MALT lymphoma : complete remission after curing the infection. *Gastroenterology.* 2000;118:821-8.
24. Ng WW, Lam CP, Chau WK et al. Regression of high-grade gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma with *Helicobacter pylori* after triple antibiotic therapy. *Gastrointest Endosc.* 2000;51:93-6.

HELICOBACTER PYLORI I FUNKCIONALNA DISPEPSIJA

Ivan Jovanović, Miodrag Krstić

SAŽETAK

U kliničkoj praksi svakodnevno se srećemo sa pacijentima kod kojih uprkos minucioznim dijagnostičkim postupcima, nismo u mogućnosti da otkrijemo strukturni ili biohemijski poremećaj odgovoran za nastanak hroničnih ili povremenih simptoma od strane gastrointestinalnog trakta. Za ove bolesnike kažemo da imaju funkcionalni poremećaj digestivnog sistema. Dispepsija je neodređen, neprecizan pojam koji se odnosi na različite simptome vezane za gornje delove abdomena koji mogu ali i ne moraju biti zavisni od uzimanja hrane. Dispepsija može imati različite uzroke. Za jednu polovinu bolesnika, kod kojih se ne može naći jasan makromorfološki supstrat za postojeće tegobe, kažemo da imaju funkcionalnu dispepsiju (FD).

Otkriće *Helicobacter pylori* i njegove uloge u nastanku mnogobrojnih oboljenja digestivnog sistema zahtevao je promenu kako dijagnostičkog tako i terapijskog pristupa bolesnicima sa dispepsijom. Ovaj rad je prikaz dosadašnjih iskustava i rezultata istraživanja uloge *Helicobacter pylori* infekcije u funkcionalnoj dispepsiji.

Cljučne reči: *Helicobacter pylori*, funkcionalna dispepsija

ABSTRACT

A large group of patients seen by gastroenterologists in clinical practice present with chronic or recurrent gastrointestinal symptoms that continue to defy explanation, despite structural and biochemical studies. These patients are generally labeled as having a functional gastrointestinal disorder. Symptoms of functional dyspepsia are among the most prevalent and it is estimated that they affect up to one-fourth of the adult population.

Helicobacter pylori has been recognized as major cause of gastritis and peptic ulcer disease and its presence has been associated with an increased risk of cancer development. However, it has not been convincingly demonstrated that this microorganism can cause chronic dyspepsia.

This is a review article on current opinion and treatment strategies for *Helicobacter pylori* and functional dyspepsia.

Key words: *Helicobacter pylori*, functional dyspepsia

Funkcionalni poremećaji GIT-a: Dispepsija-definicija i osnovna obeležja

Pojam dispepsija potiče od Grčkih reči *dys*=loš i *peptein*=kuvati, variti. Moglo bi se reći da dispepsija već vekovima predstavlja jedan od najčešće upotrebljivanih termina u medicinskoj praksi. Dispepsija je neodređen, neprecizan pojam koji se odnosi na različite simptome vezane za gornje delove abdomena koji mogu ali i ne moraju biti zavisni od uzimanja hrane. (1) Dispepsija može imati različite uzroke. (2) Za jednu polovinu bolesnika, kod kojih se ne može naći jasan makromorfološki supstrat za postojeće tegobe, kažemo da imaju funkcionalnu dispepsiju (FD). (2,3) Simptomi kod ovih bolesnika posledica su složenih patofizioloških mehanizama koji podrazumevaju uzajamno (sa)dejstvo psiholoških faktora, izmenjene percepcije visceralnog bola i poremećaj motiliteta. (3) Funkcionalna dispepsija se u svakodnevnoj praksi u odnosu na dominantne tegobe često deli na ulkusnoj bolesti sličnu i dispepsiju koja simptomima podseća na poremećaj motiliteta- dismotiletetna dispepsija. (4)

Pacijenti čiji simptomi se ne mogu svrstati ni u jednu od ovih grupa smatra se da imaju ne-specifičnu dispepsiju. (tabela 1).

Tabela 1. Roma II kriterijumi funkcionalnih poremećaja digestivnog sistema

- A. Esophageal disorders
 - A1. Globus
 - A2. Rumination syndrome
 - A3. Functional chest pain of presumed esophageal origin
 - A4. Functional heartburn (no pathological acid reflux)
 - A5. Functional dysphagia
 - A6. Unspecified functional esophageal disorder
- B. Gastroduodenal disorders
 - B1. Functional dyspepsia
 - B1a. Ulcer-like dyspepsia
 - B1b. Dysmotility-like dyspepsia
 - B1c. Unspecified (non-specific) dyspepsia
 - B2. Aerophagia
 - B3. Functional vomiting
- C. Bowel disorders
 - C1. Irritable bowel syndrome
 - C2. Functional abdominal bloating
 - C3. Functional constipation
 - C4. Functional diarrhea
 - C5. Unspecified functional bowel disorder
- D. Functional abdominal pain
 - D1. Functional abdominal pain syndrome
 - D2. Unspecified functional abdominal pain
- E. Biliary disorders
 - E1. Gall bladder dysfunction
 - E2. Sphincter of Oddi dysfunction
- F. Anorectal disorders
 - F1. Functional fecal incontinence
 - F2. Functional anorectal pain
 - F2a. Levator ani syndrome
 - F2b. Proctalgia fugax
 - F3. Pelvic floor dysynergia
- G. Functional pediatric disorders
 - G1. Vomiting
 - G1a. Infant regurgitation
 - G1b. Infant rumination syndrome
 - G1c. Cyclic vomiting syndrome
 - G2. Abdominal pain
 - G2a. Functional dyspepsia
 - G2b. Irritable bowel syndrome
 - G2c. Functional abdominal pain
 - G2d. Abdominal migraine
 - G2e. Aerophagia
 - G3. Functional diarrhea
 - G4. Disorders of defecation
 - G4a. Infant dyschezia
 - G4b. Functional constipation
 - G4c. Functional fecal retention
 - G4d. Non-retentive fecal soiling

Dijagnostički kriterijumi: (4)

- Povremeni ili stalan bol ili nelagodnost u središnjem delu gornjeg abdomena.
- Česta udruženost sa drugim simptomima kao što su: nadimanje, osećaja rane sitosti ili mučnine, itd.
- Trajanje tegoba najmanje 12 nedelja (u kontinuitetu ili sa prekidima) a bez utvrđenog organskog uzroka.
- Normalan fizikalni nalaz i laboratorijske analize.
- Nepostojanje strukturnih promena na gornjim delovima digestivnog trakta.

Helicobacter pylori

Ukoliko se pretpostavi da *Helicobacter pylori* infekcija ima uticaja na nastanak dispeptičnih simptoma za očekivati je veću učestalost infekcije u ovoj grupi bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i populaciju uopšte.

Do sada je objavljeni rezultati ukupno 42 studije u kojima je proučavana učestalost *Helicobacter pylori* infekcije kod bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom. (5) Rezultati istraživanja baziranih na endoskopskim pregledima uglavnom ukazuju na sličnu učestalost *Helicobacter pylori* infekcije u grupi bolesnika sa dispepsijom u odnosu na kontrolnu zdravu populaciju. (6, 7)

U studija baziranih na neinvazivnim metodima detekcije *Helicobacter pylori* infekcije, ili nije uočena razlika u prevalencije infekcije (8, 9) ili je ona mala i iznosi manje od 10% (7-8%). (9, 10, 11) Svakako, treba naglasiti da se u "neinvazivnim" studijama, rezultati bar jednim delom mogu pripisati prisustvu infekcije kod bolesnika sa ulkusnom bolesti, koja nije isključena endoskopskim pregledom.

Ipak, dobro dizajnirane uporedne studije (pol i godine), pokazale su da je prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije češće kod bolesnika sa dispepsijom (48% vs. 36% i 60% vs. 33%) u poređenju sa kontrolnom grupom. (12,13) Rezultati ovih dveju studija prvenstveno se odnose na zemlje visokog socijalno- ekonomskog standarda. U zemljama u razvoju prevalenca infekcije kod bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom približava se učestalosti infekcije u opštoj populaciji. Istraživanje u kojoj se poredi učestalost *Helicobacter pylori* infekcije između imigranata iz zemalja u razvoju sa osobama rođenim u Centralnoj Evropi rezultati potvrđuju ranija zapažanja o većoj prevalenciji infekcije u zemljama nižeg socijalno- ekonomskog statusa (63% : 11%). Interesantno je međutim, da se učestalost dispeptičnih tegoba ne razlikuje između ove dve grupe. (14)

Analiza Centra za dijagnostičku endoskopiju, Klinike za gastroenterologiju i hepatologiju, kod 704 bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom pokazuje prevalencu *Helicobacter pylori* infekcije od 70.5% (72% u grupi bolesnika sa histološki verifikovanim gastritisom). (15, 16)

Patofiziološki mehanizmi

Sama po sebi, akutna *Helicobacter pylori* infekcija može prouzrokovati dispeptične tegobe u izvesnoj meri. (17) Slično tome, dugotrajno prisustvo bakterije rezultira hroničnom aktivnom

inflamacijom gastrične sluznice, što bar teorijski, može dovesti do ispoljavanja simptoma. Zagovornici teorije da “*bez aktivnog gastritisa nema ni dispepsije*”, smatraju da je poreklo bola u dispepsiji u parakrinoj neurostimulaciji medijatorima zapaljenja. (18) Da li je međutim, prisustvo aktivnog zapaljenja i kiseline najvažnije za nastanak simptoma kod dispeptičnih bolesnika još uvek nije potpuno jasno.

Prema našim istraživanjima od 64 bolesnika sa dispeptičnim tegobama 76.2% ispitivanjih bolesnika sa simptomoma dispepsije imalo antralni tipa gastritisa (97.6% kod H.p.+ i 36.4% H.p.-) od čega je 81.2% pokazivalo određeni stepen aktivnosti. Međutim, kako stepen aktivnosti inflamacije slabo korelira sa jačinom tegoba, to je povezanost gastritisa i dispepsije, ako postoji, indirektna i nespecifična. (15)

Suprotno prvobitnim očekivanjima, (19, 20) većina istraživanja do sada nisu jasno pokazala da kod dispeptičnih bolesnika postoje sekretorne abnormalnosti (21-22) Ovo se odnosi i na *Helicobacter pylori* infekciju. Istina, postoji pretpostavka da jedan deo dispeptičnih bolesnika pokazuje slične poremećaje sekrecije kao i ulkusni bolesnici. (19)

Naše iskustvo govori da *Helicobacter pylori* pozitivni dispeptični bolesnici najčešće, mada ne i značajno osećaju tegobe koje se ni po čemu ne mogu odvojiti od tegoba ulkusne bolesti.¹⁵ Drugim rečima, ovi bolesnici se nalaze na “*pola puta*” do ulkusne bolesti. Dalje, dosadašnja istraživanja uglavnom ukazuju na to da *Helicobacter pylori* infekcija nema uticaja na sve ranije navedene motorne abnormalnosti registrovane kod bolesnika sa dispepsijom. (3, 23-26) Međutim, u vezi sa promenama do kojih *Helicobacter pylori* dovodi na gornjim delovima GIT-a, ne treba izgubiti iz vida i moguć uticaj infekcije na senzoričke funkcije želuca i proksimalnog dela tankog creva. Postoji mogućnost da inflamacija dovodi do sniženja praga nadražljivosti za određene draži (kiselina, rastezanje, itd).

Prospektivno-terapijski pristup: kliničke studije

Pored pokušaja da se *Helicobacter pylori* dovede u vezu sa nekim od mogućih mehanizama nastanka dispeptičnih tegoba, drugi način za utvrđivanje eventualne povezanosti *Helicobacter pylori* i funkcionalne dispepsije odnosi se na prospektivna klinička istraživanja bazirana na povoljnom terapijskom dejstvu eradikacije infekcije. (27-29) Najvažnije pitanje u terapijsko-prospektivnom pristupu proučavanja uloge *Helicobacter pylori* infekcije u funkcionalnoj dispepsiji je: “*Da li eradikacija infekcije dovodi do dugotrajnog prestanka simptoma?*”

Do sada su objavljeni rezultati dvadesetak studija u kojima se procenjuje efekat eradikacije infekcije na simptome dispepsije (5) Rezultati istraživanja objavljenih pre 1998. godine odnose se na relativno mali broj bolesnika. Dalje, od devet u kojima je korišćena kombinacija antibiotika i blokatora protonske pumpe svega četiri studije ispunjavaju metodološki prihvatljive kriterijume (27): adekvatan broj bolesnika, izbor kontrolne grupe, randomizacija.

U FROCH studiji glavni parametar za postmatranje bio je relaps simptoma tokom šestomesečnog praćenja bolesnika. Rezultati studije pokazali su da se eradikacija infekcije ne razlikuje značajno od terapije antisekretornim lekovima (40% : 33%). (30) Do sličnih rezultata

se došlo i u ORCHID studiji, (31) u kojoj se procenat bolesnika sa simptomatskim poboljšanjem nakon eradikacije terapije ne razlikuje od procenta bolesnika koji su dobili placebo (24% : 22%). Međutim, dalja analiza pokazala je da je poboljšanje simptoma značajnije u grupi bolesnika kod kojih je došlo do zalečnja gastritisa (32% vs. 17%, $p < 0.05$). U studiji Blum-a i saradnika-OCAY studija (32) takođe se ne razlikuje broj bolesnika sa povoljnim dejstvom eradikacione terapije u odnosu na placebo (27% : 21%).

Na drugoj strani, metodološki striktni UK Medical Research Council-MRC na osnovu rezultata svoje studije (poboljšanje simptoma dispepsije kod 21% u poređenju sa kontrolnom grupom-7%) (33) savetuje eradikaciju infekcije kao terapijsku meru u slučaju *Helicobacter pylori* pozitivne funkcionalne dispepsije. Do sličnih zaključaka se došlo i u istraživanju Gilvarry-ja i saradnika.³⁴ Kod bolesnika kod kojih je eradikirana infekcija došlo je do značajnog poboljšanja simptoma u ulkusnoj-bolesti- sličnoj pogrupi funkcionalne dispepsije, tokom svih dvanaest meseci praćenja, dok se simptomatsko poboljšanje u refluksnoj-bolesti-sličnoj i dismotilitetnoj dispepsiji, registruje samo tokom prvih šest meseci. Kod osoba kod kojih je eradikaciona terapija bila neuspešna, nije registrovano poboljšanje tegoba. Ellan studija u Nemačkoj takođe ukazuje na opravdanost lečenja infekcije kod bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom. (35)

Pored pojedinačnih, do sada su objavljeni i rezultati nekoliko zbirnih analiza metodološki prihvatljivih istraživanja (36) u kojima se procenjuje uticaj eradikacije infekcije na simptome funkcionalne dispepsije (37, 38, 39, 40). U najopsežnijoj od njih (37) koja je obuhvatila 2400 ispitanika, bolesnici kod kojih je eradikirana infekcija za 9% su imaju manju verovatnoću i dalje prisutnih dispeptičnih tegoba. Razlika iako mala, statistički je značajna u odnosu kontrolnu grupu. Sa druge strane meta analiza studija, uključujući i onih metodološki neadekvatnih, nije uspela da opravda eradikaciju infekcije kao terapijski izbor u lečenju *Helicobacter pylori* pozitivnih bolesnika sa simptomima dispepsije (35% vs 30%; odds ratio=1.23; $p=0.05$) (40) Iskazano kroz broj bolesnika u odnosu na broj lečenih, u najboljem slučaju eradikacija infekcije imaće povoljan efekat kod 1 od 20 dispeptičnih bolesnika. Uzimajući u obzir i potencijalni rizik nastanka refluksne bolesti jednjaka (41) i antibiotske rezistencije, (42) eradikacija infekcije predstavlja neopravdan terapijski izbor, zaključak je meta-analize.

Naše istraživanje pokazalo je da je *Helicobacter pylori* infekcija u funkcionalnoj dispepsiji češće udružena sa ulkusnoj bolesti sličnim tegobama i da iako to ne predstavlja dijagnostičku i diskriminantnu vrednost, podela može ukazati na grupu bolesnika kod kojih je za očekivati poboljšanje tegoba. (43)

Na osnovu svega izloženog, uloga *Helicobacter pylori* infekcije u nastanku simptoma funkcionalne dispepsije se ne može kategorično odbaciti. Ključne dileme su: *koji je to procenat Helicobacter pylori pozitivnih bolesnika kod koji eradikacija infekcije dovodi do potpunog povlačenja simptoma i koji procenat bolesnika treba da bude potpuno bez tegoba da bi eradikacionu terapiju mogli smatrati svrsishodnom?*

Poruka dosadašnjih istraživanja je da ukoliko *Helicobacter pylori* prouzrokuje simptome u dokazanoj funkcionalnoj dispepsiji onda je to slučaj kod relativno malog broja bolesnika Terapijsko-prospektivne studije pokazuju da u najboljem slučaju oko 20% bolesnika ima koristi

od eradikacije infekcije. Za njih se može reći da su izlečeni i da ne zahtevaju nikakvu dalju, dodatnu terapiju.

Uprkos mnogobrojnim dilemama u vezi uloge *Helicobacter pylori* infekcije u funkcionalne dispepsije, veliki broj kliničara je prihvatio koncept “*test and treat*”, odnosno “testiraj bolesnika na prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije i ukoliko je prisutna, leči je”, bez obaveznog prethodnog endoskopskog ispitivanja. Istraživanja sprovedena 1995. godine pokazuju da 25% lekara opšte prakse i 17% gastroenterologa koristi serologiju kao “*screening*” za dijagnostikovanje *Helicobacter pylori* infekcije kod osoba mlađeg uzrasta sa simptomima dispepsije.⁴⁴ Ipak treba napomenuti, da iako je koncept “*test-and-treat*” sve više prihvaćen među lekarima, bolesnika sa naglo nastalim, upozoravajućim simptomima (gubitak apetita i telesne mase, anemija itd.) treba najpre detaljno (laboratorijski, endoskopski i ehosonografski) ispitati i tek nakon toga doneti konačnu odluku o daljoj terapiji. (45)

Ukoliko ne postoje jasne indikacije za endoskopski pregled gornjih delova digestivnog sistema ili endoskopija nije dostupna, prednost treba dati eradikacionoj terapiji *Helicobacter pylori* infekcije, tim pre što se na taj način mogu i prevenirati oboljenja za koja se smatra da su u vezi sa *Helicobacter pylori* infekcijom (ulkusna bolest, karcinom želuca, MALT limfom). (46-48) Ovo naročito može biti od značaja u zemljama sa visokom prevalencijom infekcije kao što je naša.

Međutim, na konferenciji američkog udruženja za nove inicijative u terapiji gastrointestinalnih poremećaja, organizovana je panel diskusija na temu terapije funkcionalne dispepsije u slučaju pridružene *Helicobacter pylori* infekcije. Zaključeno je da koncept “*test-and-treat*” nije opravdan sa stanovišta učinka, smanjenja simptoma, satisfakcije bolesnika i troškova lečenja. (49, 50)

Asante i saradnici su predložili koncept čiji je učinak u zadovoljavajućoj razmeri sa troškovima a odnosi se na empirijsku eradikaciju *Helicobacter pylori* infekcije kod osoba mlađih od 45 godina bez alarmantnih simptoma, ukoliko puše i imaju pozitivnu porodičnu anamnezu u smislu postojanja ulkusne bolesti (49, 50) Dalje, savetuje se da endoskopski treba pregledati bolesnike čiji simptomi ne ukazuju ubedljivo da se radi o ulkusnoj bolesti i one kod kojih empirijska eradikaciona terapija nije donela zadovoljavajuće rezultate. Ovakav pristup je i najviše kritikovan, obzirom da se oslanjanje na porodičnu istoriju ulkusne bolesti nije sigurno i da je ovakva strategija veoma komplikovana za sprovođenje u opštoj praksi.

Iako je još jedino dokazano da antisekretorna terapija ima efekat u odnosu na placebo kod bolesnika sa dispeptičnim tegobama, empirijska primena lekova koji blokiraju sekreciju želudačne kiseline kod bolesnika sa prisutnom *Helicobacter pylori* infekcijom, smatra se neadekvatnom i neopravdanom. (51) Postoji nekoliko razloga koje opravdaju ovo stanovište:

Prvo: u slučaju prisutne *Helicobacter pylori* infekcije primena lekova koji blokiraju želudačnu sekreciju može dovesti ili ubrzati već postojeći proces žlezdane atrofije želudačne sluznice. (52)

Drugo, antisekretorna terapija zahteva dužu primenu što dovodi u pitanje odnos troškova i efekata lečenja. (37) Eradikacija infekcije, sa te strane, ima prednost jer se dugotrajno poboljšanje tegoba održava nakon samo jedno-nedeljne terapije.

Dalje, značajan broj bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom, kasnije, tokom 12 meseci praćenja, dobije ulkusnu bolest (4%-21). (34, 53-56)

Na kraju, ali ne i manje važno, kasniji pokušaj otkrivanja infekcije (npr. brzim ureaza testom i histološki) u slučaju prethodne primene blokatora protonske pumpe, može biti otežan (57, 58) Na osnovu svega izloženog, zaključak je da eradikacija *Helicobacter pylori* infekcije ima sličan klinički efekat kao i bilo koji dugi terapijski pristup (antisekretorni lekovi, prokinetici) u lečenju funkcionalne dispepsije. Međutim, uzimajući u obzir troškove lečenja i terapijski efekat na: a) subjektivne tegobe, b) smanjenje rizika do nastanka ozbiljnijih oboljenja (ulkus, rak želuca, MALT limfom), c) kasniju slobodniju primenu antisekretornih lekova bez bojazni of žlezdane atrofije, čine eradikaciju infekcije opravdanom kod bolesnika sa funkcionalnom dispepsijom i prisutnim *Helicobacter pylori*.

LITERATURA:

1. Heading RC. *Definitions of dyspepsia*. Scand J Gastroenterol 1991;26 Suppl 182:1-6.
2. McQuaid. Dyspepsia. In Feldman M, Scharschmidt BF, Sleizenger MS (eds), *Gastrointestinal and liver disease*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998:10-17
3. Talley NJ, Phillips SF. Non-ulcer dyspepsia: *Potential causes and pathophysiology*. Ann Intern Med 1988;108:865-879
4. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome II proces; A multinational Consensus Document on Functional Gastrointestinal Disorders. Gut 1999; 45(suppl II):II1-II5.
5. Pantoflickova DA, Blum AL. Should we eradicate *Helicobacter pylori* in non-ulcer dyspepsia? Gut 2001;48:758-761.
6. Wilhelmssen I, Tangen Haug T, Sipponen P, et al. *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia and normal controls. Scand J Gastroenterol 1994;29:522-7.
7. Lane A, Egger M, Murray LJ, et al. *Helicobacter pylori* is not a risk factor for dyspepsia: The Bristol *Helicobacter* Project. Gastroenterology 2000;118:G2420.
8. Rosenstock S, Kay L, Rosenstock C, et al. Relation between *Helicobacter pylori* infection and gastrointestinal symptoms and syndromes. Gut 1997;41:169-76.
9. Stone MA, Barnett DB, Mayberry JF. Lack of correlation between self-reported symptoms of dyspepsia and infection with *Helicobacter pylori*, in general population sample. Eur J Gastroenterol Hepatol 1998;10:301-4.)
10. Megraud F, Cantet F, Dorval E. *H.pylori* infection in general practice. Results of a large survey in France: The Hepylogue study. Gut 1997;41(suppl 1):A43.
11. Moayyedi P, Braunholtz D, Atha P. What proportion of dyspepsia in the general population is attributable to *Helicobacter pylori*? Gut 1998;42(suppl 1):A75.
12. Bernersen R, Johnsen R, Bostad L, et al. Is *Helicobacter pylori* the cause of dyspepsia? BMJ 1992;304:1276-9.
13. Tucci A, Corinaldesi R, Stanghellini V, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric function in patients with chronic idiopathic dyspepsia. Gastroenterology 1992;103:768-74).

14. Verdu EF, Fraser R, Tiberio D, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and chronic dyspeptic symptoms among immigrants from developing countries and people born in industrialized countries. *Digestion* 1996;57:180-185.
15. Jovanovic I. Klinicka studija povezanosti *Helicobacter pylori* infekcije i sindroma gornje dispepsije. Magistarska teza, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Jun 1998
16. Milosavljevic T, Jovanovic I. Functional dyspepsia (invited review). *Arch Gastroenterohepatol* 2000;19:40-52.
17. Armstrong D. *Helicobacter pylori* infection and dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 1996;31(suppl 215):38-47).
18. Deluca VA. No acid, no polyps. No active gastritis no dyspepsia. A proposal. *J Clin Gastroenterol* 1989;11:127-131.
19. El-Omar E, Penman I, Ardill JE, McColl KE. A substantial proportion of non-ulcer dyspepsia patients have the same abnormality of acid secretion as duodenal ulcer patients. *Gut* 1995;36:534-8.
20. Tucci A, Corinaldesi R, Stanghellini V, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric function in patients with chronic idiopathic dyspepsia. *Gastroenterology* 1992;103:768-74.
21. McColl KEL, EL-OmarE. *Helicobacter pylori* and disturbances of gastric function associated with duodenal ulcer diseases and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 1996;31 Suppl 215:32-7.
22. McColl KEL. *Pathophysiology of duodenal ulcer disease*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9(suppl 1):S9-S12.
23. Minocha A, Mokshagundam S, Gallo SH, Rahal PS. *Alterations in upper gastrointestinal motility in Helicobacter pyloi- positive non- ulcer dyspepsia*. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1797- 1800.
24. Marzio L, Facucci M, Ciccaglione AF, et al. *Relationship between gastric and gall-bladder emptying and refilling in normal subjects and patients with H. pylori- positive and - negative idiopathic dyspepsia and correlation wih symptoms*. *Dig Dis Sci* 1996; 41:26-31.
25. Mearin F, DE Ribot X, Balboa A, et al. *Does Helicobacter pylori infection increase gastric sensitivity in functional dyspepsia ?* *Gut* 1995;37 (1): 47- 51.
26. Holtmann G, Goebell H, Huber J, Talley NJ. *H.pylori and sensory dysfunction in patients with functional dyspepsia and healthy controls*. *Gastroenterology* 1995; 108:A615.
27. Veldhuyzen van Zanten SJO, Talley NJ, Bytzer P, et members of ROME Working Party of Functional GI Disorders. Design of treatment trials for functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999;45(suppl II):1169-77.
28. Leidy NK, Farup C, Rentz AM, et al. Patient-based assessment in dyspepsia: Development and validation of Dyspepsia Symptom Severity Index (DSSI). *Dig Dis Sci* 2000;45:1172-9.

29. Wiklund IK, Junghard O, Grace E, et al. Quality of life in reflux and dyspepsia patients. Psychometric documentation of a new disease-specific questionnaire (QoLRAD). *Eur J Surg Suppl* 1998;(583):41-49.
30. Koelz HR, Arnold R, Stolte M et al FROSCH STUDY: *Treatment of Helicobacter pylori does not improve symptoms of functional dyspepsia (FD)*. *Gastroenterology* 1998; 114:A182-3.
31. Talley NJ, Janssens J, Lauritsen K et al. *Long-term follow-up of patients with non-ulcer dyspepsia after Helicobacter pylori eradication. A randomized double-blind placebo controlled trial*. *Gastroenterology* 1998;114:A305
32. Blum AL, O'Morain C, Talley NJ, et al. Does eradication of *Helicobacter pylori* cure dyspeptic symptoms in patients with functional dyspepsia 12 months after cessation of treatment? A randomized double-blind controlled trials. Abstract. World Congress of Gastroenterology, Vienna, Austria, 6-11 September 1998.
33. McColl KEL, Murray LS, EL-Omar E et al. *UK MRC trial of Helicobacter pylori eradication therapy for non-ulcer dyspepsia*. *Gastroenterology* 1998;114:A222(G0908
34. Gilvarry J, Buckley HJ, Beattie S et al. *Eradication of Helicobacter pylori affects symptoms in non-ulcer dyspepsia*. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:35-40.
35. Malfertheiner P, Fischbach W, Layer P, et al. *Ellan study proves symptomatic benefit of Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia (FD)*. *Gastroenterology* 2000; 118:2421.
36. Veldhuyzen van Zanten SJO, Cleary C, Talley NJ, et al. Drug treatment of functional dyspepsia. A systematic analysis of trial methodology with recommendation for design of future trials. *Am J Gastroenterol* 1996;91:660-73.
37. Moayyedi P, Soo S, Deeks J, et al. Systematic review and economic evaluation of *Helicobacter pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. *BMJ* 2000;321:659-64.
38. Jaakkimainen RL, Boyle E, Tudiver F. Is *Helicobacter pylori* associated with nonulcer dyspepsia and will eradication improve symptoms? Meta-analysis. *BMJ* 1999;319:1040-4.
39. Laine L, Schoenfeld P, Fennerty MB, Therapy for *Helicobacter pylori* in patients with nonulcer dyspepsia. A meta-analysis of randomized, controlled trials (the Bond and Opera studies). *Ann Intern Med* 2001;134:361-9.
40. Pantoflickova D, Blum AL, Talley NJ, et al. Will eradication of *Helicobacter pylori* improve symptoms of non-ulcer dyspepsia? Meta-analysis included unreliable studies. *BMJ* 2000;320:1209.
41. Labenz J, Blum AL, Bayerdorffer E, et al. Curing *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux oesophagitis. *Gastroenterology* 1997;112:1442-7.
42. Adamsson I, Edlund C, Nord CE. Microbial ecology and treatment of *Helicobacter pylori* infection: review. *J Chemother* 2000;12:5-16.
43. Jovanovic I, Milosavljevic T, Micev M et al. Symptoms clusters are not helpful in diagnosis of *Helicobacter pylori* positive functional dyspepsia. *Arch Gastroenterohepatol* 1999;18:51-54.

44. Brun J. *Managing patients in general practice*. Scand J Gastroenterol 1996;31(Suppl 215):116-117.
45. Malfertheiner P, O Morain C, Michetti P. *The Maastricht guidelines and other innovation*. Curr Opin Gastroenterol 1997;13:1-7.
46. Breslin NP, Thompson AB, Bailey RJ, et al. Gastric cancer and other endoscopic diagnoses in patients with benign dyspepsia. Gut 2000;46:93-7.
47. Forbes GM, Threlfall TJ. Treatment of *Helicobacter pylori* infection to reduce gastric cancer incidence: uncertain benefits of a community based programme in Australia. J Gastroenterol Hepatol 1998;13:1091-5.
48. Hansen S, Melby KK, Aase S, et al. *Helicobacter pylori* infection and risk of cardia cancer and non-cardiac gastric cancer. Scand J Gastroenterol 1999;334:353-60.
49. Lambert JR. *The role of Helicobacter pylori in nonulcer dyspepsia*. A debate- for. Gastroenterol Clin North Am. 1993;22:141- 51.
50. Talley NJ. *The role of Helicobacter pylori in nonulcer dyspepsia*. A debate against. Gastroenterol Clin North Am. 1993;22:153- 67.
51. Nyren O. *Therapeutic trial in dyspepsia: Its role in the primary care setting*. Scand J Gastroenterol 1991;26 Suppl 182:61-69.
52. Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Knol EC, et al. Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with omeprazole or fundoplication. N Engl J Med 1996;33:1018-22.
53. Greenberg PD, Cello JP. Lack of effect treatment for *Helicobacter pylori* on symptoms of nonulcer dyspepsia. Arch Intern Med 1999;19:2283-8.
54. Blum AL, Talley NJ, O'Morain C, et al. Lack of effect of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with non-ulcer dyspepsia. N Engl J Med 1998;339:187-81.
55. Talley NJ, Vakil N, Ballard D II, et al. Absence of benefit of eradicating *Helicobacter pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia. N Engl J Med 1999;341:1106-11.
56. Matysiak-Budnik T, Poniewierka E, Gasciniak G, et al. A 5-year follow-up study of chronic gastritis patients. Ir J Med Sci 1992;161 (suppl 10):59.
57. Milosavljevic T, Jovanovic I. *Helicobacter pylori*. CD-rom izdanje, DanDesign i Medicinski fakultet, Beograd 1999
58. Megraud F. The most important diagnostic modalities for *Helicobacter pylori*, now and in the future. Eur J Gastroenterol Hepatol 1997;9 (suppl 1):S13-S15.

GASTRO-EZOFAGEALNA REFLUKSNA BOLEST I HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJA

Srdan Đuranović i Dragan Popović

SAŽETAK

Regurgitacija kiselog želudačnog sadržaja u jednjak je ključni mehanizam nastanka refluksnog ezofagitisa kao posledice *gastro-ezofagealne refluksne bolesti* (GERB). *Helicobacter pylori* (Hp) infekcija je manje zastupljena a atrofični gastritis je manje težak u pacijenata sa refluksnim ezofagitisom i odnosu na one bez ezofagitisa. Hp infekcija suprimira razvoj refluksnog ezofagitisa indukujući nastanak atrofičnog gastritisa i posledične gastrične hiposekrecije. Barrett-ov ezofagus (BE) je jasno definisana komplikacija GERB. Uporedo sa eradikacijom Hp infekcije, broj pacijenata sa BE, adenokarcinomom kardije i distalnog dela jednjaka se povećavaju. Gastricna Hp infekcija, posebno kolonizacija cagA+ sojevima, možda ima protektivni efekat na razvoj BE. Ezofagealna Hp kolonizacija je moguća ali nije česta kod pacijenata sa BE, displazijom i Barrett adenokarcinomom i ograničena je na ne-intestinalizirani kolumnarni epitel. Pitanje povezanosti GERB, BE, Barrett adenokarcinoma i Hp infekcije ostaje opskurno i kontroverzno.

Ključne reči: gastroezofagealna refluksna bolest, refluks ezofagitis, Barrett-ov jednjak, Barrett-ov adenokarcinom, *Helicobacter pylori*

ABSTRAKT

Regurgitation of acidic gastric contents into the oesophagus is a key mechanism of reflux oesophagitis secondary to *gastro-oesophageal reflux disease* (GERD). *Helicobacter pylori* (Hp) infection was less prevalent and atrophic gastritis was less severe in patients with reflux oesophagitis than those without oesophagitis. Hp infection may suppress the development of reflux oesophagitis by inducing atrophic gastritis and therefore gastric hyposecretion. *Barrett esophagus* (BE) is well recognised complication of GERD. As Hp is disappearing, BE and adenocarcinoma of gastric cardia and lower esophagus are increasing. Gastric Hp infection may have a protective effect for the development of BE, especially colonisation with cagA+ strains. Esophageal Hp colonisation is possible but uncommon in patients with BE, dysplasia or Barrett adenocarcinoma and may be restricted to non-intestinalized columnar epithelium. The relationships between GERD, BE, Barrett adenocarcinoma and Hp infection remain obscure and controversial.

Key words: gastroesophageal reflux disease, reflux esophagitis, Barrett esophagus, Barrett adenocarcinoma, *Helicobacter pylori*.

REFLUKSNI EZOFAGITIS I HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJA

Gastro-ezofagealna refluksna bolest (GERB) obuhvata široki spektar bolesti uzrokovanih regurgitacijom, odnosno retrogradnim tokom kiselog želudačnog sadržaja kroz inkompetentan gastro-ezofagealni spoj u ezofagus (1).

Patogeneza GERB je multifaktorijska. Mada njegovu osnovu čini poremećaj motiliteta i drugi faktori mogu doprineti težini simptoma i stepenu zapaljenja (2,3).

Nove studije su pokazale da se refluks, kako normalan tako i patološki, obično javlja tokom tranzitorne relaksacije donjeg ezofagealnog sfinktera (4). Usporeni klirens regurgitiranog želudačnog sadržaja iz ezofagusa kao i samo prisustvo hlorovodonične kiseline i pepsina su

takođe važni agensi koji su uključeni u patogenezu ezofagitisa. Dijafragma verovatno ima malu ulogu u održavanju kompetentnosti kardije, dok prisustvo hijatus hernije povećava verovatnoću pojave refluksne bolesti. Usporeno želudačno pražnjenje dovodi do porasta volumena želudačnog sadržaja, što izaziva povećanje gradijenta gastro-ezofagealnog pritiska i shodno tome do pojave refluksa.

Još uvek ne postoje u potpunosti jasno definisani rezultati kliničko-epidemioloških studija odnosa pojave, odnosno preveniranja nastanka GERB sa prisustvom odnosno eliminisanjem *Helicobacter pylori* infekcije.

Veći broj istraživača je referisao u svojim studijama činjenicu da je *Helicobacter pylori* infekcija ređe zastupljena a korpusni atrofični gastritis je manje težine u pacijenata sa prisutnim refluksnim ezofagitisom u odnosu na pacijente bez ezofagitisa (5,6). *Helicobacter pylori* je jedan od najvažnijih faktora u nastanku gastritisa i atrofije mukoze korpusa želuca. *Helicobacter pylori* infekcija može suprimirati razvoj refluksnog ezofagitisa indukcijom nastanka atrofičnog gastritisa i posledično nastalom gastričnom hiposekrecijom.

Koike i saradnici su u svom istraživanju jasno pokazali da je prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije signifikantno manje u pacijenata sa erozivnim refluksnim ezofagitisom nego u kontrolnoj grupi koja nije imala refluksni ezofagitis (7). Težina gastritisa i stepen atrofije na korpusu želuca su blaži u grupi pacijenata sa erozivnim refluksnim ezofagitisom nego u kontrolnoj grupi. U prilog navedenog govori i činjenica da postoji pozitivna korelacija između prisustva *Helicobacter pylori* infekcije i stepena odnosno skora atrofije korpusa želuca.

Takođe, pokazano je postojanje veće sekrecije HCl u grupi pacijenata sa refluksnim ezofagitisom (8). Upravo to ukazuje na moguću povezanost prisustva *Helicobacter pylori* i njegovog protektivnog delovanja na pojavu GERB jer hiperamonijemija nastala pod dejstvom ureaze koju luči *Helicobacter pylori* neutrališe izlučenu HCl, a IL-1 kao jedan od medijatora inflamacije deluje antisekretorno na HCl (9).

Prisustvo *Helicobacter pylori* infekcije u pacijenata sa refluksnim ezofagitisom je signifikantno niže nego u kontrolnim grupama pa se sledstveno tome ne razvija gastritis, atrofija mukoze korpusa želuca i gastrična hiposekreciju HCl. Iz navedenog se može zaključiti da *Helicobacter pylori* infekcija može biti važna kao protektivni faktor u nastanku i razvoju refluksnog ezofagitisa.

Nova istraživanja ukazuju na razvoj tranzitornog refluksnog ezofagitisa nakon uspešne eradikacije *Helicobacter pylori* infekcije u pacijenata koji prethodno nisu imali simptome GERB. Tranzitorni refluksni ezofagitis se javlja unutar nekoliko meseci do tri godine nakon eradikacije u 20-37% pacijenata. Ovo potvrđuje mišljenje da pacijenti sa *Helicobacter pylori* infekcijom mogu biti zaštićeni od GERB. Na gore navedene efekte nisu imali statistički značajnog uticaja promene težine ili navika pacijenta tokom praćenja (10).

Značaj *Helicobacter pylori* genotipova u protekciji GERB se kreće od podataka da *cagA*, *cagE* ili *vacA* genotipovi nisu imali statistički značajnih uticaja na rezultate istraživanja, pa do rezultata da značajniji protektivni efekat na GERB imaju *cagA*-pozitivne i *vacA S1* vrste (11).

Interesantno je istraživanje Labenza i Malfertheinera (12) koje sugeriraju da *Helicobacter pylori* može biti agresivni činičnik u nastanku GERB u pacijenata sa antrum-predominantnim gastritisom gde dovodi do povećanja gastične kisele sekrecije, dok kod pacijenata sa korpus-predominantnim gastritisom ili pangastritisom ima protektivnu ulogu u nastajanju GERB. Kao što je već napomenuto *Helicobacter pylori* gastritis može progredirati u multifokalni atrofični gastritis sa destrukcijom gastičnih glandula i sledstvenom hipohlorhidrijom. Upravo navedeno potvrđuje činjenicu da pacijenti sa simptomima refluksa bez ezofagitisa češće imaju aktivni korpusni gastritis nego pacijenti sa simptomima refluksa i ezofagitisa. Napred navedeno ukazuje da topografija *Helicobacter pylori* gastritisa može biti ključni element u proceni povezanosti infekcije i GERB (13). Kontrolisane studije upravo pokazuju da *Helicobacter pylori* eradikacija može rezultirati sa povećanjem incidence pojave GERB u pacijenata sa duodenalnim ulkusom (10).

Sa druge strane prospektivni, dvostruko slepi, randomizirani trajal sproveden u poslednjih 5 godina u Velikoj Britaniji nije potvrdio gore navedene rezultate već je pokazao da *Helicobacter pylori* eradikacija ne pogoršava simptome refluksa niti izaziva aktivnost ili ponovnu pojavu GERB (14). Autori sugeriraju da se efekat izazivanja atrofije gastične mukoze od strane *Helicobacter pylori*, što uslovljava smanjenu produkciju kiseline i redukciju refluksnog ezofagitisa prvenstveno zapaža u starijih pacijenata. S obzirom da je prosečna starost ispitivanih pacijenata u ovoj studiji 48 godina, moguće je da bi rezultati ispitivanja bili drugačiji u starijoj populaciji sa većom zastupljenošću pan-gastritisa i atrofije gastične mukoze.

Dvadeset godina nakon otkrića *Helicobacter pylori*, inter-relacija između *Helicobacter pylori* infekcije i GERB nije još uvek u potpunosti razjašnjena. Napred navedene činjenice govore upravo u prilog kompleksnosti ovog problema i potrebi sprovođenja daljih istraživanja (15).

BARRETT-OV JEDNJAK I HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJA

Istorijat Barrett-ovog ezofagusa (BE) počinje radom Tileston-a, patologa koji je kod nekoliko pacijenata opisao ulkuse jednjaka sa okolnom sluznicom koja je veoma ličila na normalnu želudačnu sluznicu. Mnogi istraživači, uključujući i Barrett-a (1950) su smatrali da je ovaj organ obložen kolumnarnim epitelom u stvari deo želuca koji je "povučen" u grudni koš kao posledica prisustva kratkog jednjaka. 1953. godine Allison i Johnstone iznose niz anatomskih i histoloških dokaza da se u stvari radi o delu jednjaka, sa čim se konačno 1957. slaže i sam Barrett sugerirajući da se ovo stanje treba označavati kao "distalni ezofagus pokriven kolumnarnim epitelom". Finalno 1976. godine Paull i saradnici objavljuju studiju u kojoj definišu histološki spektar Barrett-ovog jednjaka i grupišu ga u tri entiteta. Specijalizovana intestinalna metaplazija (SIM) sa prisustvom peharastih ćelija postaje sine qua non za dijagnozu BE. U toku poslednjih 10 godina postalo je jasno da prisustvo SIM bilo gde u jednjaku predstavlja predisponirajući faktor za nastanak displazije i adenokarcinoma jednjaka, tako da savremena definicija BE predstavlja prisustvo SIM bilo gde u tubularnom delu jednjaka.

Na osnovu endoskopskog izgleda BE se deli u dve kategorije koje imaju različite prognostičke implikacije: Dugi segment ("Long-segment") BE i kratki segment ("Short-seg-

ment”) BE. Kada su gastroezofagealni spoj (GES) i skvamocelularni spoj (SCS) u neposrednoj blizini, a SIM se nađe ispod nivoa SCS, tada se govori o specijalizovanoj intestinalnoj metaplaziji kardijske (“cardia-SIM”).

BE predstavlja komplikaciju gastroezofagealne refluksne bolesti (GERB) o čemu je više reči bilo u predhodnom tekstu. Patofiziologija BE predstavlja sekvencijalni proces sa završnom fazom u vidu nastanka Barrett adenokarcinoma na tom terenu (22).

Povezanost prisustva i/ili izlencenja *Helicobacter pylori* (Hp) infekcije želuca i BE je vrlo kontroverzna i nedovoljno ispitana. Poslednjih godina mnogi autori pokušavaju da pronađu eventualnu povezanost ova dva stanja. Tako Weston i saradnici (16) ispituju prevalencu Hp infekcije želuca i postojanja BE i BE koji je komplikovan displazijom i adenokarcinomom i upoređuju podatke sa grupom pacijenata koji imaju samo GERB. Prevalenca Hp je bila statistički značajno niža u grupi pacijenata sa BE sa displazijom visokog stepena i adenokarcinomom u odnosu na pacijente koji su imali samo GERB, nekomplikovani BE ili BE sa displazijom niskog stepena. Ova grupa zaključuje da je prevalenca BE sa displazijom teškog stepena i adenokarcinomom na terenu BE značajno veća u grupi pacijenata koji nisu inficirani sa Hp te smatraju da Hp infekcija želuca ispoljava protektivni efekat u odnosu na razvoj Barrett-ovog adenokarcinoma.

Slično predhodnoj studiji Voutilainen i saradnici (17,18) multivarijantnom analizom pacijenata sa BE i SIM gastroezofagealnog spoja bez BE dolaze do zaključka da prevalenca oba stanja raste sa starošću, endoskopski viđenim erozivnim gastritisom, ali ne i sa prisustvom Hp infekcije želuca. Istovremeno univarijantnom analizom uočavaju da je antralno predominantni atrofični gastritis (77% Hp pozitivan) statistički značajno udružen sa postojanjem SIM gastroezofagealnog spoja. Slične rezultate iznosi i Hirota (25) naglasavajući da pacijenti sa SIM ezofagogastričnog spoja imaju značajno veću prevalencu *H.pylori* infekcije želuca nego pacijenti sa BE.

Vieth i saradnici (19) tvrde da pacijenti sa GERB i Hp infekcijom nemaju povećan rizik od razvoja BE ili neoplazije na tom terenu. Iz iste studije se vidi da je Hp infekcija značajno češća kod pacijenata sa neulkusnom dispepsijom nego kod pacijenata sa GERB i još jednom se ističe mogući protektivni efekat infekcije u odnosu na razvoj GERB i BE.

Izgleda prilično izvesno da kolonizacija želuca cagA+ sojevima Hp predstavlja protektivni faktor u odnosu na razvoj GERB i BE. U tom smislu Loffeld i saradnici (20) pronalaze da pacijenti sa GERB i BE imaju statistički značajno ređu Hp infekciju antralnog dela želuca, posebno cagA+ soja. Slične rezultate prikazuju i Vaezi 2000. godine (21) i Rugge 2001. godine (24).

Interesantna je i studija Lord-a iz 2000 godine (23) koji analizira postojanje ezofagealne Hp infekcije kod pacijenata sa BE i adenokarcinomom na tom terenu. Prisustvo ezofagealne Hp infekcije je relativno retko, ograničeno samo na pacijente koji su imali kolumnarni “gastric-fundic” tip epitela. Kod svih ovih pacijenata je postojala i antralna Hp infekcija. Wright i saradnici (26) zaključuju da kolonizacija Barrett-ove mukoze sa Hp ima negativnu korelaciju sa povećanjem displazije na tom terenu što predstavlja analogan nalaz kao kod gastrične karcinogeneze. Slično zaključuje i Henihan (28) koji pronalazi ezofagealnu Hp infekciju kod

23% pacijenata sa BE ali ni kod jednoga sa razvijenim adenokarcinomom na terenu BE. S druge strane Quddus objavljuje studiju u kojoj analizira 19 pacijenata sa Barrett adenokarcinomom jednjaka i pri tome ne pronalazi prisustvo Hp infekcije ni u jednom od njih, niti u mukozi želuca tih pacijenata (29). On na osnovu tih nalaza zaključuje da ne postoji veza između Hp infekcije i adenokarcinoma jednjaka koji nastaje kao posledica BE.

MALT limfom u okviru Barrett-ove mukoze je redak entitet koji može biti izolovan ili udružen sa zeludačnim MALT limfomom. Nešto više od polovine tih pacijenata ima ezofagealnu kolonizaciju Hp, dok dve trećine imaju Hp infekciju želuca (27).

Jasno je da konačnih odgovora na temu povezanosti Hp infekcije, BE i Barrett-ovog adenokarcinoma još nema. Potrebne su dodatne, pažljivo dizajnirane studije koje bi eventualno dale odgovor na ovo intrigirajuće pitanje.

LITERATURA:

1. Galmiche JP, Bruley des Varannes S. Symptoms and disease severity in gastro-oesophageal reflux disease (GERD). *Scand J Gastroenterol* 1994; 29 (Suppl 201):62-8.
2. Galmiche JP, Janssens J. The pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease: an overview. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30 (Suppl 211): 7-18.
3. Boeckxstaens GE, Tytgat GNJ. Pathophysiology, diagnosis and treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* 1996; 12: 365-72.
4. Schoeman MN, Tipett MD, Akkermans LMA, Dent J, Holloway RH. Mechanisms of gastroesophageal reflux in ambulant healthy human subjects. *Gastroenterology* 1995; 108: 83-91.
5. Koike T, Ohara S, Sekine H, et al. Helicobacter pylori infection inhibits reflux esophagitis by inducing atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3468-72.
6. Shirota T, Kusano M, Kawamura O, et al. Helicobacter pylori infection correlates with severity of reflux esophagitis: with manometry findings. *J Gastroenterol* 1999; 34: 535-9.
7. Koike T, Ohara S, Sekine H, Iijima K, et al. Helicobacter pylori infection prevents erosive reflux oesophagitis by decreasing gastric acid secretion. *Gut* 2001; 49: 330-334.
8. Liston R, Pitt MA, Barnerjee AK. Reflux oesophagitis and Helicobacter pylori infection in elderly patients. *Postgrad Med J* 1996; 72: 221-3.
9. JP Galmiche, F Zerbib. Gastro-oesophageal reflux disease: from patophysiology to treatment. *Recent Advances in the Pathophysiology of Gastro-intestinal and Liver Diseases*. 1997; pp. 15-30.
10. Fallone CA, Barkun AN, Friedman G et al. Is Helicobacter pylori eradication associated with gastroesophageal reflux disease ? *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 914-920.
11. Fallone CA, Barkun AN, Gottke MU et al. Association of Helicobacter pylori genotype with gastroesophageal reflux disease and other upper gastrointestinal diseases. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 659-669.
12. Labenz J, Malfertheiner P. Helicobacter pylori in gastro-oesophageal reflux disease: causal agent, independent or protective factor ? *Gut* 1997; 41: 277-280.

13. Labenz J. Does *Helicobacter pylori* affect the management of gastroesophageal reflux disease? *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 867-869.
14. Moayyedi P, Bardhan C, Young L et al. *Helicobacter pylori* eradication does not exacerbate reflux symptoms in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2001; 121: 1120-1126.
15. John R. Goldblum et al. Inflammation and Intestinal Metaplasia of the Gastric Cardia: The Role of Gastroesophageal Reflux and *H. pylori* Infection. *Gastroenterology* 1998; 114: 633-639.
16. Weston AP, Badr AS, Topalovski M et al: Prospective evaluation of the prevalence of gastric *Helicobacter pylori* infection in patients with GERD, Barrett's esophagus, Barrett's dysplasia, and Barrett's adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2000 Feb; 95(2):387-94
17. Voutilainen M, Farkkila M, Mecklin JP et al: Classical Barrett esophagus contrasted with Barrett-type epithelium at normal-appearing esophagogastric junction. Central Finland Endoscopy Study Group. *Scand J Gastroenterol* 2000 Jan;35(1):2-9
18. Voutilainen M, Farkkila M, Juhola M et al: Specialised columnar epithelium of the esophagogastric junction: prevalence and its associations. The Central Finland Endoscopy Study Group. *Am J Gastroenterol* 1999 Apr;94(4):913-8
19. Vieth M, Masoud B, Meining A et al: *Helicobacter pylori* infection: protection against Barrett's mucosa and neoplasia? *Digestion* 2000;62(4):225-31
20. Loffeld RJ, Werdmuller BF, Kuster JG et al: Colonisation with *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains inversely associated with reflux esophagitis and Barrett's esophagus. *Digestion* 2000;62(2-3):95-9
21. Vaezi MF, Falk GW, Peek RM et al: *CagA*-positive strains of *Helicobacter pylori* may protect against Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2000 Sep;95(9):2206-11
22. Freys SM, Fuchs KH, Heimbucher J et al: Epidemiology and pathophysiology of Barrett esophagus. *Zentralbl Chir* 2000;125(5):406-13
23. Lord RV, Frommer DJ, Inder S et al: Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in 160 patients with Barrett's esophagus or Barrett's adenocarcinoma. *Aust N Z J Surg* 2000 Jan;70(1):26-33
24. Rugge M, Russo V, Busatto G et al: The phenotype of gastric mucosa coexisting with Barrett's esophagus. *J Clin Pathol* 2001;54(6):456-60
25. Hirota WK, Loughney TM, Lazas DJ et al: Specialized intestinal metaplasia, dysplasia, and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data. *Gastroenterology* 1999 Feb;116(2):277-85
26. Wright TA, Myskow M, Kingsnorth AN: *Helicobacter pylori* colonisation of Barrett's esophagus and its progression to cancer. *Dis Esophagus* 1997 Jul;10(3):196-200
27. Weston AP, Cherian R, Horvat RT et al: Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) in Barrett's esophagus: prospective evaluation and association with gastric MALT, MALT lymphoma, and *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1997 May;92(5):800-4

28. Henihan RD, Stuart RC, Nolan N et al: Barrett s esophagus and presence of Helicobacter pylori. Am J Gastroenterol 1998 Apr;93(4):542-6
29. Quddus MR, Henley JD, Sulaiman RA et al: Helicobacter pylori infection and adenocarcinoma arising in Barrett s esophagus. Hum Pathol 1997 Sep;28(9): 1007-9

NESTEROIDNI ANTIINFLAMATORNI LEKOVI I HELICOBACTER PYLORI

Nenad Mijalković, Predrag Dugalić

SAŽETAK

Dva najvažnija faktora rizika za nastanak ulkusne bolesti su *Helicobacter pylori* (Hp) infekcija i nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL).

Bez obzira na napredak u našem razumevanju uloge *Hp infekcije* i konzumiranja NSAIL u nastanku ulkusa, interakcija između ova dva faktora rizika nedovoljno je objašnjena i vrlo kontradiktorna. Dok nekoliko studija nalazi da je nastanak peptičkog ulkusa češći kod *Hp inficiranih* konzumenata NSAIL-a, dotle istraživanja drugih autora govori za smanjenu prevalencu ulkusne bolesti u slučaju sadejstva *Hp infekcije* i korišćenja NSAIL. *H. pylori* izaziva oštećenja gastroduodenalne mukoze kroz inicijaciju inflamatorne kaskade citokina i neutrofila, a NSAIL inhibiraju sintezu prostaglandina u gastričnoj mukozi. Međutim, oba faktora povećavaju interčelijsku permeabilnost gastrične mukoze i time slabe otpornost sluznice na kiselinu, pepsin i druge agresivne faktore.

Većina studija ukazuje da *Hp infekcija* igra mnogo značajniju ulogu u nastanku duodenalnih ulkusa kod NSAIL-konzumenata u odnosu na gastrične ulkuse, što navodi na zaključak da NSAIL-udruženi gastrični ulkusi ne zavise od *Hp infekcije*, dok *Hp infekcija* zajedno sa NSAIL povećava rizik za nastanak ulkusa duodenuma.

Može se konstatovati da *Hp infekcija* ili NSAIL nezavisno povećavaju rizik za nastanak ulkusne bolesti i krvarenje peptičkog ulkusa. Utvrđeno je da postoji sadejstvo *Hp infekcije* i konzumiranja NSAIL u nastanku i krvarenju peptičkog ulkusa, na osnovu srazmernog povećanja rizika.

Uloga *H. pylori* kod svežih NSAIL konzumenata u nastanku ulkusne bolesti je izgleda različita u odnosu na hronične NSAIL konzumente. *H. pylori* povećava rizik za nastanak ulkusa kod svežih NSAIL korisnika, dok NSAIL verovatno uzrokuje većinu ulkusa kod hroničnih NSAIL korisnika, što potvrđuju raniji nalazi da eradikacija *Hp infekcije* ne utiče na ulkusni rizik kod hroničnih korisnika NSAIL. Ovi nalazi samo potvrđuju postojeći konsenzus i preporuku o testiranju i eradikaciji *H. pylori*-ja kod pacijenata koji su na početku NSAIL terapije, a pritom imaju povećani rizik za nastanak ulkusa.

Ključne reči: *Helicobacter pylori*, nesteroidni antiinflamatorni lekovi

SUMMARY

Helicobacter pylori (Hp) infection and use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most important risk factors for peptic ulcers disease. Despite progress in our understanding of the role of the role *Hp infection* and NSAIDs in ulcer development, the interreaction between these two risk factors remain poorly understood and highly controversial. Some studies have found that the occurrence of peptic ulcer is increased in *Hp-infected* NSAIDs takers, whereas others showed a reduction in prevalence of peptic ulcer disease when *Hp infection* and NSAIDs use coexist. *Helicobacter pylori*-related mucosal damage mainly involves the inflammatory cascade of cytokines and neutrophils, whereas NSAIDs inhibit the synthesis of prostaglandins in the gastric mucosa. However, both *H. pylori* and NSAIDs increase paracellular gastric mucosa permeability, and expose the weakened mucosa to acid, pepsin and other exogenous aggressive factors.

The most studies suggest that *Hp infection* plays a more important role in the formation of duodenal ulcer in NSAIDs takers, but has less impact on gastric ulcer. It can be concluded that NSAIDs-associated gastric ulcer is not related to *Hp infection*, whereas *Hp infection* increases the risk of duodenal ulcer associated with NSAIDs.

H. pylori infection or NSAIDs use independently increases the risk of peptic ulcer disease and ulcer bleeding. There is a synergism on the formation of peptic ulcer between *Hp infection* and NSAIDs use, based on the magnitude of the risk ratio.

The role of *HP infection* in patients who have no previous exposure to NSAIDs differ from those who are already receiving these drugs. *H. pylori* contributes to an excess ulcer risk in NSAID-naive individuals, whereas NSAIDs probably cause the majority of ulcers in long-term users irrespective of *H. pylori*. This is supported by a previous finding that eradication of *H. pylori* did not affect the ulcer risk of patients who were already on long-term NSAIDs. All this findings adds strength to the existing consensus recommendation to test for and eradicate *H. pylori* in patients who are at increased risk of ulcers and are about to start NSAID treatment.

Key words: *Helicobacter pylori*, NSAID

Dva najvažnija faktora rizika za nastanak ulkusne bolesti su *Helicobacter pylori* (*Hp*) infekcija i nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) (1). Rizik za nastanak peptičkog ulkusa zbog postojanja *Hp infekcije* je 48%, dok kod pacijenata koji koriste NSAIL iznosi 24%.

Rezultati brojnih randomiziranih i kontrolisanih kliničkih istraživanja ukazuju da eradikacija *Hp infekcije* leči većinu peptičkih ulkusa i istovremeno smanjuje recidive ulkusa. Lečenje NSAIL-udruženih peptičkih ulkusa mnogo je teže nego *Hp-udruženih ulkusa*. Najjednostavnije i najefektnije lečenje je prekid NSAIL terapije, što potvrđuje povezanost između korišćenja NSAIL i ulkusne bolesti.

Uloga *Helicobacter pylori* infekcije u NSAIL-udruženoj gastropatiji

Bez obzira na napredak u našem razumevanju uloge *Hp infekcije* i konzumiranja NSAIL u nastanku ulkusa, interrekcija između ova dva faktora rizika nedovoljno je objašnjena i vrlo kontraverzna. Vrlo su protivurečni rezultati epidemioloških i kliničkih studija koje istražuju povezanost *Hp infekcije* i NSAIL-gastropatije. (2) Dok nekoliko studija nalazi da je nastanak peptičkog ulkusa češći kod *Hp inficiranih* konzumenata NSAIL-a , dotle istraživanja drugih autora govori za smanjenu prevalencu ulkusne bolesti u slučaju sudejstva *Hp infekcije* i korišćenja NSAIL. (5) Upravo ova diskrepanca u rezultatima istraživanja govori o složenom odnosu *Hp infekcije* i NSAIL gastropatije.

Moguća su četiri scenarija o odnosu *Hp infekcije* i NSAIL-gastropatije, kao dva glavna faktora rizika ulkusne bolesti:

- 1) izostanak interrekcije,
- 2) zbirni efekat,
- 3) sinergistički efekat,
- 4) antagonistički efekat

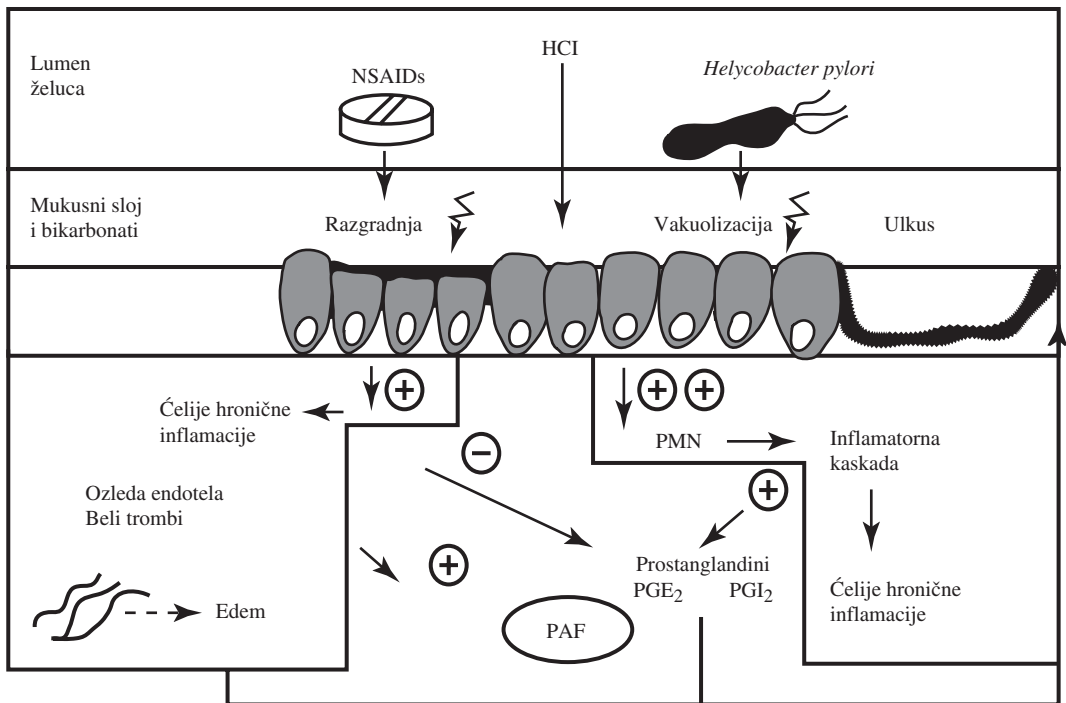
***Hp* infekcija i NSAIL - mehanizmi oštećenja gastroduodenalne mukoze**

Iako *Hp infekcija* i NSAIL različitim mehanizmima dovode do oštećenja gastroduodenalne mukoze, određeni patofiziološki putevi nastanka ulceracije su i zajednički. Dok *H. pylori* izaziva oštećenja gastroduodenalne mukoze kroz aktivaciju inflamatorne kaskade citokina i neutrofila, dotle NSAIL inhibiraju sintezu prostaglandina u gastričnoj mukozi, a oba faktora povećavaju interćelijsku permeabilnost gastrične mukoze i time slabe otpornost sluznice na kiselinu, pepsin i druge agresivne faktore.

H. pylori ima izraženu interakciju sa gastričnim epitelom u toku kolonizacije i preživljavanja. Bakterija proizvodi veliki broj enzima, kao što su ureaza, proteolitički enzimi, antioksidansi, lipaze i fosfolipaze A2, koji razgrađuju glikoproteinski mukus i oštećuju gastrične epitelne ćelije. Istovremeno, *H. pylori* aktivira inflamatornu kaskadu sa oslobađanjem proinflammatoryh citokina, koji takođe oštećuju mukoza.

NSAIL inhibicijom sinteze i sekrecije prostaglandina dovode do smanjene sekrecije mukusa i bikarbonata, usporavaju mukozni krvotok i obnavljanje mukoznih ćelija. Korišćenje NSAIL-a, takođe, značajno smanjuje antiinflamatorno i antiulcerogeno dejstvo prostaglandina, što dovodi do infiltracije neutrofila i sledstvenog oštećenja gastrične mukoze.

Kod dugotrajnih konzumenata NSAIL, *Hp infekcija* i infiltracija neutrofila u gastričnoj mukozi značajno povećavaju prevalencu petičkih ulkusa u poređenju sa pacijentima koji nemaju *Hp infekciju* i infiltraciju neutrofila u mukozi želuca. (3). Ovi rezultati mogu sugerisati na moguće sadejstvo *Hp infekcije* i konzumiranja NSAIL u oštećenju gastrične mukoze. S



Shema 1. *Helicobacter pylori* i NSAIL-sadejstvo patogenih faktora u oštećenju gastroduodenalne mukoze

druge strane, *Hp infekcija* može biti korisna kod NSAIL konzumenata, imajući u vidu da *H. pylori* povećava nivo prostaglandina u gastričnoj mukozi. (4)

Da li *Hp infekcija* povećava rizik za nastanak peptičkog ulkusa kod NSAIL-konzumenata?

Poznato je da *Hp infekcija* ili korišćenje NSAIL-a, nezavisno, 3-4 puta povećavaju rizik za nastanak peptičkog ulkusa.

Metaanalizom takođe je utvrđeno da 1/3 hroničnih NSAID konzumenata ima gastrični i/ili duodenalni ulkus, nezavisno od *Hp statusa* i dizajna studije. *Hp infekcija* dva puta povećava rizik za nastanak peptičkog ulkusa kod ovih pacijenata. Istovremeno, povećani rizik je konstatovan samo za ulkus duodenuma, ali ne i za gastrični ulkus i njegovu prevalencu, koja se ne razlikuje između *Hp* pozitivnih i *Hp* negativnih NSAID-konzumenta. (5)

Većina studija ukazuje da *Hp infekcija* igra mnogo značajniju ulogu u nastanku duodenalnih ulkusa kod NSAID-konzumenata u odnosu na gastrične ulkuse, što dovodi do zaključka da NSAID-udruženi gastrični ulkusi ne zavise od *Hp infekcije*, dok *Hp infekcija* zajedno sa NSAID povećava rizik za nastanak ulkusa duodenuma. (5)

U studijama u kojima kontrolnu grupu predstavljaju pacijenti koji ne konzumiraju NSAID, rizik za nastanak peptičkog ulkusa je tri puta veći kod pacijenta koji koriste ove lekova, a nezavisno od *Hp statusa*.

Hp infekcija, kod konzumenata NSAID povećava rizik za nastanak peptičkog ulkusa sa 3 na 6 puta. Ovo povećanje rizika, sugerise za eventualno sadejstvo ova dva faktora rizika, pri čemu *Hp infekcija* ne povećava rizik za nastanak gastričnog ulkusa kod konzumenata NSAID, dok s druge strane konzumiranje NSAID kod *Hp pozitivnih* pacijenata, povećava rizik za nastanak gastričnog ulkusa 4-6 puta, ali ne povećava rizik za duodenalni ulkus. Ovi rezultati potvrđuju da je gastrični ulkus predominantno uzrokovan NSAID, dok je duodenalni uglavnom udružen sa *Hp infekcijom*. (5)

O mogućoj interakciji *Hp infekcije* i NSAID-a govore i studije kod pacijenata sa krvarećim peptičkim ulkusom. Sistematizacijom rezultata dosadašnjih studija utvrđeno je da pacijenti sa krvarećim peptičkim ulkusom u odnosu na kontrolne, značajno češće koriste NSAID (odds ratio-OR 4,85), dok *Hp infekcija* samo marginalno povećava rizik za krvarenje ulkusa (OR 1,79). Kad su prisutna oba faktora rizika povećanje rizika je zbirno (OR 6,13), što ukazuje da i *Hp infekcija* i NSAID doprinose krvarenju peptičkog ulkusa, s tim da NSAID imaju glavnu ulogu. (5)

Da li eradikacija *Hp* infekcije usporava zarastanje ulkusa kod NSAID konzumenata?

U randomiziranoj kliničkoj studiji, Chan i saradnici su kod 195 *Hp inficiranih* pacijenata sa NSAID-udruženim krvarećim ulkusom utvrdili da *Hp eradikacija* ne utiče na zarastanje ulkusa u poređenju sa pacijentima koji su bili samo na antisekretornoj terapiji. (6)

Nasuprot ovim nalazima Porro i saradnici ukazuju da *Hp eradikacija* smanjuje brzinu zarastanja ulkusa, iako istovremeno uspešna eradikacija *Hp* infekcije smanjuje recidive ulkusa za 15% tokom 6 meseci u poređenju sa inficiranim pacijentima.

Rezultati studije Chan i saradnika iz 2001 god. govore je *Hp eradikacija* efikasna koliko i terapija omeprazolom za prevenciju ulkusnog krvarenja kod pacijenata koji koriste male doze aspirina, ali ne i kod pacijenata koji koriste naproxen, što nam sugerise da *Hp eradikacija* ne može zameniti antisekretornu terapiju kod NSAID-konzumenata sa visokim rizikom ulkusnog krvarenja. (7)

Poznato je da *Hp infekcija* povećava antisekretorni efekat omeprazola (8), što delimično objašnjava razliku u remisiji ulkusa između *Hp pozitivnih* i *Hp negativnih* pacijenta. (9)

U zaključku se može konstatovati da *Hp infekcija* ili NSAIL nezavisno povećavaju rizik za nastanak ulkusne bolesti i krvarenje peptičkog ulkusa. Utvrđeno je da postoji sadejstvo *Hp infekcije* i konzumiranja NSAIL u nastanku i krvarenju peptičkog ulkusa, na osnovu srazmernog povećanja rizika.

Kod pacijenata koji koriste NSAIL *Hp infekcija* povećava rizik za nastanak duodenalnog ulkusa, ali ne utiče na rizik za nastanak gastričnog ulkusa. Korišćenje NSAIL povećava rizik i za gastrični i za duodenalni ulkus kod *Hp negativnih* pacijenata, a peptički ulkusi obe lokalizacije se retko viđaju kod *Hp negativnih* konzumenata NSAIL. (10)

Da li je potrebna eradikacija Hp infekcije kod pacijenta koji započinju NSAIL terapiju?

Peptički ulkus udružen sa konzumiranjem NSAIL predstavlja ozbiljan zdravstveni problem. Savremena strategija prevencije ulkusne bolesti kod NSAIL konzumenata podrazumeva: koterapiju sa anti-ulkusnim lekovima ili koršćenje COX-2-NSAIL-a. (11)

Eradikacija *Hp infekcije*, kao reverzibilnog faktora rizika, bi mogla biti nova strategija u prevenciji NSAIL udruženih ulkusa. (12)

Studije koje istražuju da li *Hp eradikacija* smanjuje rizik za nastanak NSAIL-ulkusa imaju protivurečne rezultate.

Eradikacija *Hp infekcije* sa bismuth triplom terapijom kod pacijenata koji ranije nisu konzumirali NSAIL-e smanjuje rizik za nastanak peptičkog ulkusa 73% u toku 2 meseca. Nasuprot ovim nalazima, *Hp eradikacija* kod pacijenata koji su već bili na NSAIL terapiji ne smanjuje oštećenja gastroduodenalne mukoze, niti sprečava ulkusna krvarenja.

Ovi suprostavljeni nalazi ukazuju da se pacijenti koji nisu konzumirali NSAIL, razlikuju od pacijenata koji su već koristili ove lekove. Epidemiološke studije pokazuju da kod pacijenata koji su skoro započeli NSAIL terapiju, rizik ulkusne bolesti i komplikacija je dva do četiri puta veći, u odnosu na hronične NSAIL konzumente.

Chan i saradnici su utvrdili da *Hp eradikacija*, kod pacijenata sa dispepsijom ili ulkusnom anamnezom, na početku NSAIL terapije, smanjuje rizik endoskopskih ulkusa i ulkusnih komplikacija. (13)

Hp infekcija smanjuje adaptaciju gastrične mukoze na aspirin, dovodeći do izraženih oštećenja sluznice. Druga mogućnost je da korišćenje NSAIL može ubrzati ulkusne komplikacije kod pacijenata sa već postojećom *Hp pozitivnim* ulkusom.

Uloga *H. pylori* kod svežih NSAIL konzumenata je izgleda različita u odnosu na hronične NSAIL konzumente. *H. pylori* povećava rizik za nastanak ulkusa kod svežih NSAIL korisnika, dok NSAIL verovatno uzrokuje većinu ulkusa kod hroničnih NSAIL korisnika, što potvrđuju raniji nalazi da eradikacija *Hp infekcije* ne utiče na ulkusni rizik kod hroničnih korisnika NSAIL.

Nalaz Chan-a i saradnika samo potvrđuje postojeći konsenzus i preporuku o testiranju i eradikaciji *H. pylor-ija* kod pacijenata koji su na početku NSAIL terapije, a pritom imaju povećani rizik za nastanak ulkusa.

LITERATURA

1. Huang JQ, Hunt RH. The management of acute gastric and duodenal ulcer. In: Wolf MM, editor. *Therapy of Digestive Disorders: a Companion to Sleisenger and Fordtrans Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia, PA:Saunders; 2000:113-26.
2. Chan FKL, Sung JJY. How does *Helicobacter pylori* infection interact with nonsteroidal anti-inflammatory drugs? *Bailliere's Clin. Gastroenterol.* 2000;14:161-72.
3. Taha AS, Dahil S, Morran C et al. Neutrophils, *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drug ulcers. *Gastroenterology.* 1999;116:254-8.
4. Hawkey CJ. The importance of *Helicobacter pylori* in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In: Hawkey CJ, Wight NJ editors. *Clinician's Manual on nonsteroidal anti-inflammatory drugs and Gastrointestinal Complications*. 2001; Life Science Communications Ltd : 44-49.
5. Huang JQ, Lad R, Hunt RH. Role of *Helicobacter pylori* infection in nonsteroidal anti-inflammatory drugs-associated gastropathy. In: Hunt RH, Tytgat GNJ editors. *Helicobacter pylori: Basic mechanisms to Clinical Cure*. Lancaster: Kluwer; 2000; 443-51.
6. Chan FK, Sung JJ, Suen R et al. Does eradication of *Helicobacter pylori* impair healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug associated bleeding peptic ulcers? A prospective randomized study. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:1201-5.
7. Chan FK, Chung SC, Suen BY et al. Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patients with *Helicobacter pylori* infection who are taking low dose aspirin or naproxen. *N Engl J Med* 2001;344:967-77.
8. Gillen D, Wirz AA, Neithercut WD, Ardill JE, McColl KE. *Helicobacter pylori* infection potentiates the inhibition of gastric acid secretion by omeprazole. *Gut* 1999; 44: 468-75.
9. Yeomans ND, Garas G, Hawkey CJ. The non-steroidal anti-inflammatory drugs controversy. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 791-805.
10. Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH. Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. *Lancet* 2002; 359:14-22.
11. Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N Engl J Med* 1999; 340: 1888-99.
12. Russell RI. *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: ulcers and bleeding ulcers. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31:116-18.
13. Chan FKL, To KF, Wu JCY, Yung MY, Leung WK, Kwok T, Hui Y, Chan HLY, Chan CSY, Hui E, Woo Jean, Sung JJY. Eradication of *Helicobacter pylori* and risk of peptic ulcers in patients starting long-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 9-13.

HELICOBACTER PYLORI I CIROZA JETRE

Miodrag Krstić, Rada Ješić i Goran Janković

SAŽETAK:

H.Pylori infekcija nema značajnu ulogu u patogenezi ulkusne bolesti u pacijenata sa cirozom jetre. U pacijenata sa cirozom jetre, infekcija sa H.Pylori selektivno smanjuje aktivnost citohroma P-450 pri čemu ne utiče na funkcionalnu masu jetre. Pacijenti inficirani virulentnijim sojevima H.Pylori koji stvaraju citotoksin (CagA+) imaju značajno više vrednosti SGOT od neinficiranih. Nakon eradikacije, vrednosti SGOT ostaju povišene što ukazuje da infekcija sa H.Pylori najverovatnije nije uzrok povišenih vrednosti SGOT u ovih pacijenata. Eradikacija H.Pylori značajno smanjuje koncentraciju amonijuma u krvi i želudačnom soku cirotičara ali ne dovodi do poboljšanja vizualnih evociranih potencijala. Izolacija nekih sojeva Helicobactera u tkivu jetre ljudi potvrđuje da ove bakterije mogu da kolonizuju i humanu jetru. Može li prisustvo ovog mikroorganizma da doprinese pogoršanju bolesti jetre za sada nije jasno.

Ključne reči: Helicobacter pylori, bolesti jetre, encefalopatija.

SUMMARY:

The association between H.Pylori infection and peptic ulcer disease is weak in cirrhosis. H.Pylori infection seems to selectively affect cytochrome P-450 liver activity, while hepatic functional mass does not seem to be impaired. In cirrhotic patients with CagA+ H.Pylori strains serum SGOT levels are higher than in normal subjects, but the failure to resolve after the cure of infection makes it unlikely to be a direct result of the H.Pylori infection. Helicobacter pylori eradication in cirrhotics decreases blood and gastric juice ammonia concentrations whereas it does not provide an improvement in visual evoked potential recordings. The isolation of a Helicobacter strain from the human liver tissue confirms that, as in animals, Helicobacter species may colonize the liver of humans. Whether the presence of microorganism may contribute to the hepatic damage is still unclear.

Key words: Helicobacter pylori, liver disease, encephalopathy.

Otkriće bakterije Helicobacter Pylori od strane Warena i Marchala, pre više od 20 godina, je višestruko zainteresovalo kliničare hepatologe širom sveta (1-14). Patofiziološka osnova za istraživanje uloge H. pylori u cirozi jetre temelji se na nekoliko činjenica:

1 - U necirotnoj populaciji, ova bakterija je najčešći prouzrokovatelj gastritisa i duodenalnog ulkusa. Eradikacija H. pylori dovodi do trajnog izlječenja ovih bolesti u većine tretiranih.

Iz kliničkog iskustva je dobro poznato koliko su bolesnici sa cirozom jetre osetljivi na unutrašnje krvarenje. Hemoragija je jedan od najčešćih deklansirajućih činilaca za nastanak porto-sistemske encefalopatije i kome jetre. Patogenetski mehanizam je dvostruk. Prvo, krvarenje produbljuje postojeću hepatocelularnu insuficijenciju jer smanjujući priliv krvi dovodi do hipoksije i daljeg oštećenja tkiva. Ove promene su naročito izražene u zoni 3 acinusa (mikrocirkulatorna periferija). Drugo, razlaganjem krvi u lumenu digestivne cevi stvara se velika količina amonijuma i drugih toksišnih metabolita koje insuficijentna jetra ne može da

preradi. Ti metaboliti u praktično neizmenjenom obliku dospevaju do centralnog nervnog sistema, gde izazivaju encefalopatiju i komu.

Variksi jednjaka su najčešći ali ne i jedini uzrok krvarenja cirotičnih bolesnika. Peptički ulkus duodenuma i erozivni gastritis takođe su neretko uzrok fatalnih krvarenja u pacijenata sa cirozom. Teoretski gledano, ako se ispostavi da *H. Pylori* ima i u cirotičnih bolesnika važnu ulogu u patogenezi ulkusa i gastritisa, onda bi eradikacija ove bakterije doprinela eliminaciji važnog uzroka krvarenja.

2 - H. pylori poseduje snažnu ureaznu aktivnost, izazivajući razlaganje ureje na amonijum i ugljen dioksid.

Iako patogeneza hepatičke encefalopatije u pacijenata sa cirozom jetre nije do kraja razjašnjena, nesporno je da hiperamonijemija ima značajnu ulogu i da može da doprinese razvoju makar subkličičke forme bolesti.(17-18)

Osnovni izvor amonijuma u ljudskom telu je digestivni tubus i to naročito kolon.(19) Izgleda da je najmanje 10% ukupno sintetisanog amonijuma posledica ureazne aktivnosti mukoze želuca.(20) Eliminacija *H.Pylori*, teoretski gledano, takođe bi mogla da snizi sistemsku koncentraciju amonijuma i tako spreči nastanak ili makar ublaži kliničku sliku hepatičke encefalopatije.

3 – Sojevi Helicobacter različiti od H.Pylori mogu da izazovu bolest jetre u životinja (H. canis u pasa, H.hepaticus i bilis u miševa i H.cholecystus u Sirojskih hrčkova).(21)

Izolacija nekih sojeva *Helicobacter* u tkivu jetre ljudi potvrđuje da ove bakterije mogu da kolonizuju i humanu jetru.(22) Ove činjenice ukazuju na moguću patogenetsku ulogu mikroba u raznim hroničnim hepatopatijama.

Istraživanja koja su do sada rađena, jednim delom se bave prevalencom *H. pylori* u cirozi (1-8). Izgleda da se ova bakterija u ciročara javlja nešto ređe no u ostaloj populaciji iste uzrasne dobi (4). Prevalenca *H.pylori* ne zavisi od etiologije bolesti, mada postoje i oprečna shvaćanja.(2.4) U jednoj studiji je nađena da prevalenca infekcije raste linearno sa visinom unosa alkoholnih pića (5). U drugim studijama, alkohol inverzno korelira sa prevalencom infekcije, ali ne u statistički značajnoj meri (2). Ponudeno je i obrazloženje za takvu pojavu, koje bi moglo da se odnosi samo sa Mediteranske zemlje. Crno vino, koje se uglavnom i pije u Francuskoj, Italiji i Španiji, ima direktno antibaktericidno dejstvo na *H. pylori*, koje je slično delovanju koloidnog bizmut subcitrate (16). Drugo, osobe koje imaju gastritis izazvan sa *H.pylori*, obično imaju dispeptičke tegobe pa ne podnose alkohol. Treće, alkohol podstiče atrofiju mukoze želuca, koja takođe favorizuje eradikaciju bakterije. U Kini je *H.pylori* češće prisutan u HCV+ nego u etiličara (15). Naši rezultatu ne ukazuju da prevalenca *H.pylori* zavisi od etiologije ciroze jetre.

Za sada je sigurno utvrđeno da *H. pylori* nema značajnu ulogu u patogenezi portne hipertenzivne gastropatije (8-9). *H. pylori* izgleda da nije bitan faktor za nastanak erozivnog gastritisa i duodenalnog ulkusa u cirozi (10-11,13). U pacijenata sa cirozom jetre koji imaju i

duodenalni ulkus, zastupljenost H.Pylori infekcije je svega između 30 i 40%.(11-13,14) U opštoj populaciji blizu 95% obolelih od duodenalnog ulkusa je inficirano ovim patogenom. Izgleda da drugi patogenetski činioci, pre svega hiperhistaminemija, imaju značajniju ulogu u patogenezi ulkusa duodenuma i gastritisa u cirozi.

U animalnim studijama je dokazano da infekcija sa H.Pylori indukuje hiperamonijemiju u džerbila sa cirozom jetre.(17) Za sada je publikovana samo jedna studija koja se bavila efektima eradikacije H.Pylori na mentalni status obolelih cirotičara. (18) Rezultati ove studije ukazuju da eradikacija mikroba značajno snižava koncentraciju amonijuma u želudačnom soku i u krvi. Preklinički stadijum portosistemske encefalopatije se može otkriti jedino psihometrijskim testovima ili analizom vizualnih evociranih potencijala.(18) U pomenutoj studiji, eradikacija H.Pylori je značajno smanjila koncentraciju amonijuma ali nije imala efekat na ispravljanje vizualnih evociranih potencijala. Zaključak autora je da eradikacija H.Pylori ne doprinosi poboljšanju subkliničke encefalopatije u ljudi obolelih od ciroze jetre. Svakako da nije moguće doneti konačan stav na osnovu nalaza jedne studije tako da se u bliskoj budućnosti očekuju veći, kontrolisani i multicentrični projekti sa korišćenjem i psihometrijskih testova i vizualnih evociranih potencijala. Prevalenca H.Pylori infekcije ne zavisi od stadijuma oštećenja jetre u cirozi, tj oboleli sa stadijumom A, B i C po Child-Pugh-ovoj klasifikaciji su podjednako često inficirani ovim patogenom.(14)

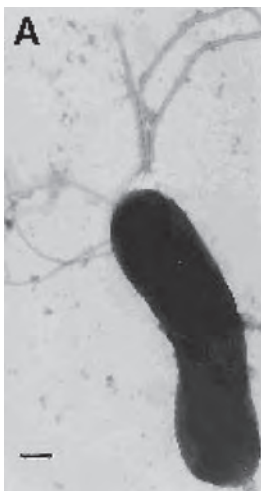
Konačno, može li H.Pylori sam po sebi da uzrokuje oštećenje neke od jetrenih funkcija i da li neki pripadnik Helicobacter soja može da uzrokuje specifičnu bolest jetre?

Pacijenti inficirani virulentnijim sojevima H.Pylori koji stvaraju citotoksin (CagA+) imaju značano više vrednosti SGOT od neinficiranih i inficiranih sa CagA- sojevima.(20) Tri meseca nakon eradikacije, vrednosti SGOT ostaju povišene što ukazuje da infekcija sa H.Pylori najverovatnije nije uzrok povišenih vrednosti SGOT u ovih pacijenata. Izgleda da uzrok

povišenih vrednosti SGOT u ovih pacijenata nije jetrenog porekla, obzirom da su vrednosti SGPT, enzima specifičnijeg za jetru od SGOT u granicama normale.

Najsenzitivniji testovi za ispitivanje funkcije jetre su MEGX test (zavistan od citohroma P-450 i protoka krvi kroz jetru) i galaktoza eliminacioni test koji zavisi od enzimske aktivnosti u citozolu i koji korelira sa funkcionalnom masom jetre. U pacijenata sa cirozom jetre, infekcija sa H.Pylori selektivno smanjuje aktivnost citohroma P-450 pri čemu ne utiče na funkcionalnu masu jetre.(19) TNF alfa nije medijator u ovim događanjima.(19) Klinička posledica snižene aktivnosti citohroma P-450 u cirozi je dalje pogoršanje metabolizma lekova koje već postoji zbog same bolesti jetre.

Izolacija nekih sojeva Helicobacter speciosa u tkivu cirotične jetre je otvorila brojna pitanja koja za sada čekaju odgovor (slika levo): Da li je oštećenje jetre tipa ciroze iliolestaze neophodno za kolonizaciju bakterije? U tom slučaju bakterija ne može biti



Helicobacter izolovan iz tkiva jetre

uzročnik hronične bolesti jetre. Može li u infekcija ovim patogenom da pogorša bolest jetre i izmeni prirodni tok bolesti?

Uloga *Helicobacter Pylori* infekcije u cirozi jetre je, za sada, samo delimično rasvetljena. Infekcija ovim patogenom najverovatnije da nema većeg značaja ni u patogenezi ulkusne bolesti cirotičara ni u nastanku i održavanju portosistemske encefalopatije. Brojna istraživanja koja su za sada sprovedena su otvorila mnoga nova interesantna pitanja koja čekaju odgovor. Rešenje makar neke od spomenutih zagonetki će, nadamo se, doprineti boljem lečenju pacijenata sa teškim, hroničnim bolestima jetre.

LITERATURA:

1. Flisiak R, Prokopowicz D, Tynecka E. Macroscopic changes in endoscopy of upper digestive tract and *Helicobacter pylori* infections in patients with liver cirrhosis. *Prezgl Epidemiol* 1994; 48(4): 455-9.
2. Calvet X, Navarino M, Gil M, et al. Seroprevalence and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1997; 26(6): 1249-54.
3. Kataev SS, Lebedev SP, Golovanova OI, et al. *Campylobacter pylori* in patients with liver cirrhosis of different etiologies. *Arkh Patol* 1990; 52(10): 45-9.
4. Schmulson M, De Leon G, Kersenovich A, et al. *Helicobacter pylori* infection among patients with alcoholic and nonalcoholic cirrhosis. *Helicobacter* 1997; 2: 149-51.
5. Pateron D, Fabre M, Ink O, et al. Effect of alcohol and cirrhosis on the presence of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa. *Gastroenterol Clin Biol* 1990; 14(6-7): 555-60.
6. Floreani A, Biagini MR, Zappal F, et al. Chronic atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in primary biliary cirrhosis: a cross-sectional study with matching. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997; 29(1): 13-7.
7. Kao CH, Tsai SC, Wang SJ and Chen GH. Abnormal gastric emptying and *Helicobacter Pylori* infection in patients with cirrhosis of the liver. *Nucl Med Commun* 1996; 17(10): 915-9.
8. Balan KKM, Jones AT, Roberts NB, et al. The effects of *Helicobacter pylori* colonization on gastric function and the incidence of portal hypertensive gastropathy in patients with cirrhosis of the liver. *Am J Gastroenterol* 1996; 91(7): 1400-6.
9. Parikh SS, Desai SB, Prabhu SR, et al. Congestive gastropathy: factors influencing development, endoscopic features, *Helicobacter pylori* infection, and microvessel changes. *Am J Gastroenterol* 1994; 89(7): 1036-42.
10. Chen JJ, Changchien CS, Tai DI, et al. Role of *Helicobacter pylori* in cirrhotic patients with peptic ulcer. A serological study. *Dig-Dis-Sci* 1994; 39(7): 1565-8.
11. Wang CH, Ma LR, Lin RC. *Helicobacter pylori* infection and risk of peptic ulcer among cirrhotic patients. *J Formos Med Assoc* 1997; 96(1): 55-8.
12. Siringo S, Bolondi L, Piscaglia M, et al. peptic ulcer in patients with liver cirrhosis: a retrospective endoscopic and clinical study. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997; 29(1): 62-8.

13. Balzano A, Mosca S, Amitrano L. Gastric antral erosions and *Helicobacter pylori* infection in cirrhotic patients: a pilot controlled study of oral bismuth vs ranitidine therapy. *Ital J Gastroenterol* 1991; 23(3): 132-5.
14. Miya H, Ito S, Azuma T, et al. Effects of *Helicobacter pylori* eradication therapy on hyperammonaemia in patients with liver cirrhosis. *Gut* 1997; 40(6): 726-30.
15. Chen JJ, Tai DI, Lee Cm, et al. Role of *Helicobacter pylori* infestation with peptic ulcer. A serological study. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 1565-8.
16. Weisse ME, Eberly B, Person DA. Wine as digestive aid: comparative antimicrobial effects of bismuth salylilate and red and white wine. *Br Med J* 1995; 311: 1757-60.
17. H Suto, T Azuma, S Ito, M Ohtani, M Dojo, Y Ito, Y Kohli, M Kuriyama. *Helicobacter pylori* infection induces hyperammonaemia in Mongolian gerbils with Liver cirrhosis. *Gut* 2001;48:605-608 605
18. Levent Demirtürk, Yusuf Yazgan, Özgür İzci, Melih Özel, Erdem Togrol, Mustafa Gültepe. The Effect of *Helicobacter pylori* Eradication on Gastric Juice and Blood Ammonia Concentrations and on Visual Evoked Potentials in Cirrhotics. *Helicobacter* 2001; 6: 325-330
19. Giannini A, Fasoli A, Borro P, Malfatti P, Romagnoli A, Botta F, Testa A. Impairment of cytochrome P-450- dependent liver activity in cirrhotic patients with *Helicobacter pylori* infection *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 5: 1967-1973.
20. Graham D, Osato M, Olson C, Zhang J and Figura N. Effects of H.Pylori infection and CagA status on leukocyte counts and liver function tests: extra-gastric manifestations of H.Pylori infection. *Helicobacter* 1998;3:174-178
21. Solnick JV, Schaurer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 59-97.
22. Maria D and Queiroz M. isolation of *Helicobacter* strain from the human liver. *Gastroenterology* 2001; 121: 1023-38.

HELICOBACTER PYLORI I KORONARNA BOLEST

Branislava Ivanović, Dimitra Kalimanovska, Ana Karadžić

ABSTRAKT

Helicobacter pylori is one of four microorganisms often investigated for association with ischaemic heart disease. These four microorganisms *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, Cytomegalovirus and Herpes virus, cause low-grade, life-long infections that can produce a persistent inflammation, which would lead to heart disease. A lot of studies suggest that there is association between *Helicobacter pylori* and coronary disease, but other suggest none. Recent studies have also found a relationship between infection with *Helicobacter pylori* and coronary heart disease. The possible mechanisms by which *Helicobacter pylori* may influence the risk of developing coronary artery disease are unknown although many theories exist. Some authors postulate that this chronic infection is accompanied by persistent inflammatory responses with release of number of cytokines (e.g. interleukin 6, interleukin 8 and tumor necrosis factor alfa). Interleukin 6 and tumor necrosis factor alfa have intense proinflammatory properties and may activate the endothelium to produce powerful vasoconstrictor substances. These cytokines, along with its soluble receptor circulate at higher levels in patients with coronary heart disease and concomitant *Helicobacter pylori* infection then in those who are *Helicobacter pylori* negative. *Helicobacter pylori* infection may also have other effects on the cellular immune system, on the serum lipide profile, on the bioavailability of folates and others. Although the literature data are provocative and interesting, the two diseases may not be exactly related. It is essential to establish the specific mechanism, which is involved in either appearance or protection off coronaropathy. The definite answer could come from clinical trials designed to test whether antibiotics could prevent the disease.

Key words: *Helicobacter pylori*, coronary artery disease

SAŽETAK

Helicobacter pylori je jedan od četiri mikroorganizma čija je uzročna povezanost sa ishemijskom srčanom bolešću najčešće ispitivana. Ta četiri mikroorganizma (uz *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumonie*, Cytomegalovirus i Herpes virus) uzrokujući dugotrajnu infekciju slabog intenziteta uslovljavaju perzistentnu inflamaciju koja može voditi srčanom oboljenju. Brojnim studijama je ukazano da postoji udruženost infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti dok je drugima ona negirana. Novijim studijama je potvrđena njihova zavisnost. Mehanizam kojim bi infekcija igrala ulogu u nastanku koronarne bolesti je nepoznat. Izvestan broj istraživača pretpostavlja da je prateća manifestacija hronične infekcije *Helicobacter-om pylori* oslobađanje citokina i to interleukina 6 i alfa faktora tumorske nekroze koji sem inicijalnog, direktnog oštećenja endotela dovode i do oslobađanja vazoaktivnih supstanci. Kao potencijalni mehanizmi dejstva infekcije *Helicobacter-om pylori* na razvoj koronarne ateroskleroze navode se njeni uticaji na celularni imunološki sistem, profil serumskih lipida, bioraspoloživost folata i dr. Mada su podaci u literaturi provokativni i interesantni odnos između ove dve bolesti nije tačno određen. Veoma je važno odrediti mehanizam koji učestvuje u nastanku ili zaštiti od koronaropatije. Najvažniji odgovor će dati klinička ispitivanja kojima će se utvrditi da li antibiotska terapija može imati ulogu u prevenciji koronarne bolesti.

Gljučne reči: *Helicobacter pylori*, koronarna bolest

Aterosklerotska koronarna bolest je multifaktorijalno oboljenje. (1) Jedan od njenih mogućih uzroka je infekcija (1). Brojnim istraživanjima je ukazano da četiri mikroorganizma - *Chlamydia pneumonije*, *Cytomegalovirus*, *Herpes virus* i *Helicobacter pylori*, uslovljavajući perzistentnu inflamaciju, predstavljaju potencijalni uzrok koronarne bolesti. (2)

Infekcija *Helicobacter-om pylori* i koronarna bolest

Na osnovu činjenice da su koronarna bolest i infekcija *Helicobacterom pylori* veoma česte u opštoj populaciji, Mendall i saradnici su prvi 1994. godine, pretpostavili da postoji veza između njih. Utvrdili su da je seropozitivnost na *Herlicobacter pylori* dva puta češća kod bolesnika sa koronarnom bolešću nego u kontrolnoj grupi zdravih osoba (odds koeficijent je iznosio 2,8). (3) Do sličnih rezultata došli su Patel i saradnici. Oni su našli da je seropozitivnost na *Helicobacter pylori* bila značajno češća kod bolesnika sa ishemijskom srčanom bolešću u odnosu na one bez srčanog oboljenja (77% vs 46%). (4) Za razliku od njih, Rathbone i saradnici su objavili rezultate istraživanja u kome nisu zabeležili povećanje broja seropozitivnih osoba u grupi obolelih od akutnog infarkta miokarda u odnosu na one bez koronarne bolesti. (5) Ovaj nalaz je bio potkrepljen pretpostavkom da infekcija *Helicobacter-om pylori* dovodi do ateroskleroze ali ne i tromboze koronarnih arterija.

Usledilo je objavljivanje brojnih epidemioloških studija o povezanosti infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti. Danesh i saradnici su analizom rezultata dvadeset preliminarnih i završenih istraživanja objavljenih u periodu od 1994. do 1996. godine, kojima je bilo obuhvaćeno oko 2600 ispitanika, došli do zaključka da je uzročna povezanost između infekcije i koronarne bolesti slaba, jer je odds koeficijent u većini studija bio oko 1,0. (6) Ovaj nalaz su objasnili time što je većinom studija bio obuhvaćen mali broj ispitanika a i njihov je izbor bio neadekvatan jer nije isključen uticaj drugih faktora rizika bitnih u nastanku koronarne bolesti. (6) Isti autor sa saradnicima, godinu dana kasnije, objavio je analizu osamnaest većih epidemioloških studija kojima je obuhvaćeno 10 000 ispitanika a u kojima je ispitivana uzročna povezanost infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti. (7) Utvrdili su da postoji značajna povezanost infekcije i koronarne bolesti ali su isključili postojanje zavisnosti drugih faktora rizika u nastanku koronarne bolesti i same infekcije. Ista grupa istraživača našla je umerenu povezanost infekcije i akutnog infarkta miokarda (42% seropozitivnih u grupi obolelih prema 24% u kontrolnoj grupi odds koeficijent 2,28). (8)

Paralelno sa studijama kojima je utvrđeno postojanje značajne ili umerene udruženost infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti (9-11), objavljene su i studije kojima se ta udruženost negira. (12-14) Negacija udruženosti zasnivala se na indirektnim i direktnim dokazima. Negiranje povezanosti je indirektno ostvareno dokazivanjem da infekcija *Helicobacter-om pylori* ne utiče na porast nivoa fibrinogena i alfa faktora tumorske nekroze i nivo lipida. (15) Pouzdanija potvrda nepostojanja udruženosti infekcije i koronarne ateroskleroze dobijena je direktnom negacijom koja se zasnivala na nalazu poednake učestalosti seropozitivnosti u grupi obolelih od koronarne bolesti i zdravih. (12-14)

Nema dovoljno uverljivog objašnjenje za ovakve razlike u rezultatima. Neujednačenost dizajniranja studija, različiti inkluzioni kriterijumi bolesnika i nemogućnost isključivanja uticaja drugih faktora rizika u nastanku koronarne bolest samo delom objašnjavaju ove razlike. Radi povećanja pouzdanosti inkluzionih kriterijuma u novijim istraživanjima koronarna bolest je potvrđivana odnosno isključivana selektivnom koronarografijom. (16-19) Međutim, ni pouzdano

izdvajanje bolesnika sa koronarnom bolešću nije dovelo do usaglašene potvrde da infekcija *Helicobacter-om pylori* predstavlja mogući faktor rizika u nastanku koronarne bolesti. (16-19)

Jedna od otežavajućih okolnosti u svim ovim studijama je i ta što seropozitivnost na *Helicobacter pylori* ne predstavlja sigurni znak aktivne infekcije. Takođe, visoka koncentracija IgG za *Helicobacter pylori* je prvenstveno pokazatelj hronične infekcije sluznice želuca ali nije indikator perzistentne ekspozicije koronarnih arterija tom insultu. (20) U dijagnozi hronične infekcije sluznice želuca, već duže vreme, prednost se daje histološkoj analizi biopsijom dobijenog uzorka sluznice antruma i korpusa želuca, kultivisanju isečka sluznice, PCR (lančanoj reakciji polimeraze) kao i urea izdisajnom testu i brzom ureaza testu.

Nalaz *Helicobacter pylori* DNA (PCR metodom) u aterosklerotičnom plaku i odsustvo u zdravim delovima koronarnih arterijskih sudova predstavlja sigurnu potvrdu uloge ovog mikroorganizma u nastanku ateroskleroze. (21)

Pored koronarnih krvnih sudova, infekcija *Helicobacterom pylori* predstavlja jedan od mogućih uzročnika aterosklerotičnih promena na karotidnim arterijama. Međutim isključena je uloga ove infekcije u nastanku aterosklerotičnih promena na femoralnim arterijama. (22)

Mogući mehanizmi kojima infekcija *Helicobacter-om pylori* uzrokuje promene na koronarnim krvnim sudovima

U traganju za mehanizmom kojim infekcija *Helicobacter-om pylori* dovodi do koronarne bolesti došlo se do brojnih ali neuniformnih zaključaka.

Nepobitna je činjenica da se infekcija javlja u ranom životnom dobu. (23) Loše socijalno-ekonomske prilike u detinjstvu imaju neospornog uticaja na njeno širenje i stvaranje preduslova za razvoj koronarne bolesti na terenu hronične inflamacije. (23) Pored zastoja u rastu koji je izraženiji kod dečaka, autopsijski je dokazano da hronična infekcija kako virusna tako i bakterijska dovodi do zadebljanja zida koronarnih arterija što predstavlja preduslov razvoja koronarne ateroskleroze. (23)

Eksperimentalno je dokazano da se inflamatorni proces uzrokujući destabilizaciju aterosklerotičnog plaka uključuje u pogoršanje koronarne bolesti koje se manifestuje akutnim koronarnim događajem. (24)

Istraživanja zasnovana na pretpostavci da *Helicobacter pylori* infekcija dovodi do povećanja C reaktivnog proteina i plazma fibrinogena dala su kontraverzne rezultate. C-reaktivni protein je senzitivni pokazatelj inflamacije, infekcije i tkivnog oštećenja. (24) Ovaj protein direktno interreaguje sa aterosklerotično promenjenim sudom, aktivacijom sistema komplementa koji je dalje odgovoran u progresiji inflamacije i tromboze. (25) U taj proces se uključuje i fibrinogen koji ima ključnu ulogu u kaskadi koagulacije i agregacije trococita i određivanju plazma viskoznosti. U prvi mah se činilo da nalaz povećanja nivoa C reaktivnog proteina i plazma fibrinogena kod seropozitivnih bolesnika sa ishemijskim srčanim oboljenjem daje odgovor na pitanje koji je mehanizam kojim *Helicobacter pylori* infekcija uzrokuje aterosklerozu. (4, 26, 27) Rezultati više studija su pokazali da postoji trend povećanja nivoa C reaktivnog proteina i fibrinogena kod seropozitivnih bolesnika sa koronarnom bolešću u odnosu na seronegativne bolesnike ali da to povećanje nije statistčki značajno. (9, 10, 16) Isključeno je

povećanje nivoa von Willebrandovog činioca, faktora VII i inhibitora aktivacije plazminogena kod bolesnika sa infekcijom *Helicobacter-om pylori* i koronarnom bolešću. (16)

U hroničnoj infekciji *Helicobacter-om pylori*, u gastričnoj mukozi dolazi do oslobađanja više citokina, primera radi, interleukina 8, interleukina 6, alfa faktora tumorske nekroze. Nivo cirkulišućih citokina u *Helicobacter pylori* seropozitivnih bolesnika sa koronarnom bolešću se značajnije povećava nego u onih bez infekcije. (16) Interleukin 6 i alfa faktor tumorske nekroze sem neposrednog inicijalnog oštećenja endotela indukuju i perpetuiraju produkciju vazokonstriktornih substanci te se to može smatrati mogućim mehanizmom uticaja infekcije *Helicobacter-om pylori* na razvoj koronarne bolesti. (16)

Osei-Gerning i saradnici su utvrdili da infekcija *Helicobacter-om pylori* ima ulogu u stvaranju ateroma ali ne i trombozi koronarnih arterija. (16) Taj nalaz su objasnili upravo opisanim dejstvom citokina. Dopunili su ga nalazom da su za hroničnu infekciju *Helicobacter-om pylori* karakteristična ognjišta makrofaga i T limfocita u arterijskom zidu i proliferacija i migracija glatkih mišićnih ćelija. Utvrđeno je da u sklopu infekcije *Helicobacter-om pylori* dolazi do aktivacije drugih sistemskih imunih medijatora koji olakšavaju nastanak ateroskleroze. Primera radi, antitela za proteine toplotnog šoka (heat shock proteins) bakterije pokazuju ukrštenu reakciju sa proteinima toplotnog šoka aterosklerotične lezije. (16, 28)

Jedno od mogućih objašnjenja uzročne povezanosti infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti leži u činjenici da bakterijske infekcije dovode do poremećaja metabolizma lipida. Citokini, posebno alfa faktor tumorske nekroze, inhibirajući lipoprotein lipazu dovode do mobilizacije lipida iz tkiva i povećanja nivoa triglicerida i smanjenja lipoproteina visoke gustine (HDL) što predstavlja preduslov razvoja ateroskleroze. Dokazano je da kod bolesnika inficiranih *Helicobacter-om pylori* postoji značajno povećanje koncentracije serum triglicerida i ukupnog holesterola i značajno smanjenje lipoproteina visoke gustine. (29, 30) *Helicobacter pylori* učestvuje i u stvaranju lipidnih peroksida koji oksidacijom lipoproteina niske gustine (LDL) učestvuju u ranoj pojavi i kasnijoj evoluciji aterosklerotičnog procesa. (31)

Smanjenje bioraspoloživosti folata kod bolesnika inficiranih *Helicobacter-om pylori* može povećati rizik od koronarne bolesti. U uslovima povećane kiselosti želudačnog soka zbog infekcije redukuje se apsorpcija folata. To veoma brzo rezultuje neadekvatnim folatnim statusom i redukcijom aktivnosti metionin sintetaze što dovodi do povećanja koncentracije homocisteina koji deluje toksično na endotelne ćelije. (32)

Gastroenterološkim ispitivanjima je dokazano da patogeniji sojevi *Helicobacter-a pylori* izazivaju teže forme gastrointestinalnih oboljenja. Podaci o uticaju patogenijih sojeva na učestalost i težinu koronarne bolesti su neusaglašeni. Pasceri i saradnici su našli da infekcija patogenijim - CagA pozitivnim sojem *Helicobacter-a pylori* izaziva značajniju udruženost sa koronarnom bolešću (odds koeficijent 4,2) u odnosu na manje patogeni oblik - CagA negativni (odds koeficijent 0,8). (33) Gun i saradnici su našli da postoji značajnija povezanost infekcije patogenim sojevima sa infarktom miokarda kod mladih osoba (sa manje od 55 godina) nego kod starijih osoba. Definitivno objašnjenje ovog nalaz je izostalo. (34) Kao i mnogi drugi nalazi o povezanosti infekcije *Helicobacter-om pylori* i koronarne bolesti i ovaj je osporen. (35)

Na osnovu navedenih kontroverznih stavova vrlo teško je zaključiti da li stvarno postoji uzročna veza između ove dve bolesti. Injenica je da su svaka za sebe, veoma česte u opštoj populaciji. Poznato je da učestalost koronarne bolesti raste sa starenjem. Takođe, u zemljama sa niskim stepenom razvoja, u koje spada i naša, procenat učestalosti inficiranih *Helicobacter-om pylori* je indentičan životnom dobu (tako u grupi bolesnika starih 60 godina 60% je inficiranih). To je razlog više da se zapitamo da li je infekcija *Helicobacter—om pylori* samo uzgredni nalaz kod obolelih od koronarne bolesti ili je stvarni faktor rizika u nastanku koronarne ateroskleroze? Neophodnost razjašnjenja ove dileme leži u činjenici da ukoliko se dokaže da je infekcija *Helicobacter-om pylori* faktor rizika u nastanku koronarne bolest postoji mogućnost za razvoj nove strategije u prevenciji ateroskleroze koronarnih arterija.

LITERATURA:

1. Mawhorter SD, Lauer MA. Is atherosclerosis an infectious disease? *Cleve Clin J Med* 2001; 68(5): 449-58
2. Cammarota G, Pasceri V, Gasbarrini A, Gasbarrini G. *Helicobacter pylori* is an aetiological factor for ischaemic heart disease: the case against. *Dig Liver Dis* 2000; 32(1): 65-8
3. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, Camm AJ, Northfield TC : Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br Heart J* 1994; 71:437-9
4. Patel P, Mendall MA, Carrington D, Strachan DP, Leatham E, Molineaux N, Levy J, Blakeston C, Seymour CA, Camm AJ, et al: Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *BMJ* 1995 Sep 16; 311(7007):711-4
5. Rathbone B, Martin D, Stephens J, Thompson JR, Samani NJ: *Helicobacter pylori* seropositivity in subjects with acute myocardial infarction. *Heart* 1996 Oct;76(4): 308-11
6. Danesh J, Collins R, Peto R: Chronic infection and coronary heart disease. Is there a link? *Lancet* 1997;350:430-36
7. Danesh J, Peto R. Risk factors for coronary heart disease and infection with *Helicobacter pylori*: meta-analysis of 18 studies. *BMJ* 1998; 316: 1130-1132
8. Danesh J, Youngman L, Clark S, Parish S, Peto R, Collins R. *Helicobacter pylori* infection and early onset myocardial infarction: case-control and sibling pairs study *BMJ* 1999; 319:1157-1162
9. Strachan DP, Mendall MA, Carrington D, Butland BK, Yarnell JW, Sweetnam PM, Elwood PC: Relation of *Helicobacter pylori* infection to 13-year mortality and incident ischemic heart disease in the caerphilly prospective heart disease study. *Circulation* 1998 Sep 29;98(13):1286-90
10. McDonagh TA, Woodward M, Morrison CE, McMurray JJ, Tunstall-Pedoe H, Lowe GD, McColl KE, Dargie HJ: *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease in the North Glasgow MONICA population. *Eur Heart J* 1997 Aug;18(8):1257-60

11. Strandberg TE, Tilvis RS, Vuoristo M, Lindroos M, Kosunen TU: Prospective study of *Helicobacter pylori* seropositivity and cardiovascular diseases in a general elderly population. *BMJ* 1997 May 3;314(7090):1317-8
12. Khurshid A, Fenske T, Bajwa T, Bourgeois K, Vakil N: A prospective, controlled study of *Helicobacter pylori* seroprevalence in coronary artery disease. *Am J Gastroenterol* 1998 May;93(5):717-20
13. Wald NJ, Law MR, Morris JK, Bagnall AM. *Helicobacter pylori* infection and mortality from ischaemic heart disease: negative result from a large, prospective study. *BMJ* 1997 Nov 8; 315(7117): 1199-201
14. Roivainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, Toivanen P, Leinonen M, Saikku P, Tenkanen L, Manninen V, Hovi T, Mänttari M. Infections, Inflammation, and the Risk of Coronary Heart Disease *Circulation*. 2000; 101:252-260
15. Regnstrom J, Jovinge S, Bavenholm P, Ericsson CG, De Faire U, Hamsten A, Hellenius ML, Nilsson J, Tornvall P: *Helicobacter pylori* seropositivity is not associated with inflammatory parameters, lipid concentrations and degree of coronary artery disease. *J Intern Med* 1998 Feb;243(2):109-13
16. Ossei-Gerning N, Moayyedi P, Smith S, Braunholtz D, Wilson JJ, Axon AT, Grant PJ: *Helicobacter pylori* infection is related to atheroma in patients undergoing coronary angiography. *Cardiovasc Res* 1997 Jul;35(1):120-4
17. Zhu J, Nieto F, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE. Prospective Study of Pathogen Burden and Risk of Myocardial Infarction or Death *Circulation*. 2001; 103:45-54
18. Quinn MJ, Foley BJ, Mulvihill NT, Johnny Lee J, Crean PA, Walsh MJ, O'Morain CA: *Helicobacter Pylori* Serology in Patients With Angiographically Documented Coronary Artery Disease *Am J Cardiol* 1999; 83:1664-66
19. Koenig W, Rothenbacher D, Hoffmeister A, Miller M, Bode G, Adler G, Hombach V, März W, Pepys M, Brenner H. Infection With *Helicobacter pylori* Is Not a Major Independent Risk Factor for Stable Coronary Heart Disease Lack of a Role of Cytotoxin-Associated Protein A-Positive Strains and Absence of a Systemic Inflammatory Response *Circulation*. 1999; 100:2326-32
20. Danesh J, Koroeth J Is *Helicobacter pylori* a Factor in Coronary Atherosclerosis *Journal of Clinical Microbiology*, May 1999; Vol. 37, No. 5: 1651-1651
21. Farsak B, Yildirim A, Akyön Y, Pinar A, Öç M, Böke E, Kes S, Tokgözoğlu L Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* DNA in Human Atherosclerotic Plaques by PCR *Journal of Clinical Microbiology*, December 2000, , Vol. 38, No. 12 p. 4408-4411
22. Mayr M, Kiechl S, Willeit J, Wick G, Xu Q. Infections, Immunity, and Atherosclerosis Associations of Antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, and Cytomegalovirus With Immune Reactions to Heat-Shock Protein 60 and Carotid or Femoral Atherosclerosis *Circulation*. 2000; 102:833

23. Pesonen EA, Paakkari IB, Rapola JC: Infection-associated intimal thickening in the coronary arteries of children Atherosclerosis 1999; 142: 425–429
24. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of Myocardial Damage and Inflammation in Relation to Long-Term Mortality in Unstable Coronary Artery Disease *N Eng J Med* October 19, 2000 Volume 343:1139-1147
25. Mendall MA, Patel P, Ballam L, et al. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996; 312:1061-1065
26. Folsom AR, Peacock JM, Nieto FJ, Rosamond WD, Eigenbrodt ML, Davis CE, Wu KK: Plasma fibrinogen and incident hypertension in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *J Hypertens* 1998 Nov;16(11):1579-83
27. Parente F, Porro GB: The association between *Helicobacter pylori* infection and ischemic heart disease: facts or fancy? *Helicobacter* 1997 Jul;2 Suppl 1:S67-72
28. Birnie D, Holme E, McKay I, et al. Association between antibodies to heat shock protein 65 and coronary atherosclerosis. *Eur Heart J* 1998; 19:387-394
29. Niemela S, Karttunen T, Korhonen T, Laara E, Karttunen R, Ikaheimo M, Kesaniemi YA: Could *Helicobacter pylori* infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentrations? *Heart* 1996 Jun;75(6):573-5
30. Laurila A, Bloigu A, Nayha S, Hassi J, Leinonen M, Saikku P: Association of *Helicobacter pylori* infection with elevated serum lipids. *Atherosclerosis* 1999 Jan;142(1):207-10
31. Fan HG, Yakoob J, Chua A, Fan XJ, Keeling PW: *Helicobacter pylori* induced lipid peroxidation in peripheral blood lymphocytes. *APMIS* 1995;103:316-19
32. Markle HV: Coronary artery disease associated with *Helicobacter pylori* infection is at least partially due to inadequate folate status. *Med Hypotheses* 1997 Oct;49(4):289-92
33. Pasceri V, Cammarota G, Patti G, Cuoco L, Gasbarrini A, Grillo R, Fedeli G, Gasbarrini G, Maseri A : Assotiation of Virulent *Helicobacter pylori* Strains with Ischemic Heart Disease. *Circulation* 1998;97:1675-79
34. Gunn M, Stephens JC, Thompson JR, Rathbone BJ, Samani NJ Significant association of cagA positive *Helicobacter pylori* strains with risk of premature myocardial infarction *Heart* 2000;84:267-271
35. Stone AF, Risley P, Markus HS, Butland BK, Strachan PB, Elwood PC, Mendall MA Ischaemic heart disease and Cag A strains of *Helicobacter pylori* in the Caerphilly heart disease study *Heart* 2001;86:506-509

ZNAČAJ *HELICOBACTER PYLORI* INFEKCIJE U OBOLJENJIMA BILIJARNOG STABLA

Milutin Bulajić, Bojan Štimatec, Miroslav Milićević, Matthias Loehr, Ivan Boričić, Radmilo Krstić,
Nada Kovačević, Mirko Bulajić

SAŽETAK

Uvod: Standardne dijagnostičke procedure za detekciju *Helicobacter pylori*, ne ispunjavaju visoke standarde u pronalaženju *H. pylori* u ekstragastričnim manifestacijama ove infekcije. Danas je razvijena metoda PCR, koja umnožavajući ciljanu gensku sekvencu specifičnog *ureA* gena, detektuje *H. pylori* kada je on prisutan samo u tragu.

Materijal i metode: U našu kliničku studiju uključeno je 83 bolesnika (47% muškaraca, 53% žena). Kod svih bolesnika urađen je ERCP, sa uzimanjem uzoraka žuči za analizu. Uzorci su uzeti odmah nakon kanulacije u cilju sprečavanja kontaminacije duodenalnim sadržajem. Prisustvo *H. pylori ureA* gena dokazano je *nested* PCR metodom, sa dva para prajmera i analizom produkta reakcije od 258 bp elektroforezom na agarozu gelu.

Rezultati: Na osnovu kliničkog ispitivanja, najveći broj ispitanika uključenih u ovu studiju imao je bilijarnu litijazu (55.2%). Kod ostalih je dominirao nalaz inflamacije bilijarnog stabla (19.5%) ili tumora (adenokarcinom) bilijarnog stabla (17.2%), dok je 7 (8.1%) bolesnika imalo normalan nalaz, pa su oni predstavljali kontrolnu grupu. Ispitanici sa normalnim ERCP nalazom imaju pozitivan PCR u 14% slučajeva, dok ispitanici sa tumorom holecistusa i žučne kesice imaju pozitivan PCR kod 80% slučajeva.

Zaključak: PCR je visoko specifična i senzitivna metoda za određivanje genskih sekvenci *H. pylori* u žuči. *H. pylori* se može smatrati i jednim od uzroka geneze holesterolskih kamenaca u žučnoj kesici, dok tumori žučnih vodova (adenokarcinom), pokazuju statističku povezanost sa prisustvom *H. pylori* infekcije.

Cljučne reči: *Helicobacter pylori*, bilijarno stablo

SUMMARY

Introduction: Standard diagnostic procedures seems to be insufficient in detection of *Helicobacter pylori* infection in extragastric tissue samples. From that reason, special PCR method is developed to prove presence of *H. pylori ureA* gene in microscopic trace.

Material and methods: Our clinical study included 83 patients (47% male and 53% female). All patients underwent ERCP, with bile sampling. Bile samples were taken immediately after cannulation, in order to prevent duodenal contamination. Presence of *H. pylori ureA* gene is confirmed using nested PCR, with two pairs of primers and by analysis of 258 bp PCR products during electrophoresis in agarose gel.

Results: Our clinical investigation showed that most of patients had biliary lithiasis (55.2%). The rest of patients suffered from cholangitis (19.5%) or bile duct malignancy (17.2%). Normal ERCP was established in 7 (8.1%) patients and we took them as a control group. Among them positive PCR finding had 14% of patients, while 80% of patients with cholangiocarcinoma was positive to *H. pylori* in bile.

Conclusion: PCR is high sensitive and specific method in determining *H. pylori* gene sequences in bile. *H. pylori* infection in bile could be one of the causes of cholelithiasis, while bile duct adenocarcinoma shows high prevalence of *H. pylori* infection.

Key words: *Helicobacter pylori*, bile duct

Uvod. Standardne dijagnostičke procedure za detekciju *Helicobacter pylori*, ne ispunjavaju visoke standarde u pronalaženju *H. pylori* u ekstragastričnim manifestacijama ove infekcije. Brzi ureaza test za otkrivanje *H. pylori* infekcije u želucu daje često lažno negativne ili pozitivne rezultate. (1) Mikroskopska analiza uzoraka različitim vrstama bojenja takođe se pokazuje kao nespecifičan test sa slabom senzitivnošću za otkrivanje ovog organizma. Za dobijanje kultura *H. pylori* potreban je period od čak 3 do 7 dana inkubacije. Zbog toga se pristupilo kloniranju ureaza gena *H. pylori*, specifičnog za ovu vrstu, čime je postignuta visoka senzitivnost i specifičnost dijagnostičke procedure, koja koristi navedeni gen. (2) Sekvencirani su ureaza geni (EMBL acc. N^o X17079) (3) i sintetizovani specifični *H. pylori* oligonukleotidni prajmeri. Služeći se parom ovih oligonukleotidnih prajmera za detekciju i identifikaciju *H. pylori*, danas je razvijena metoda PCR (*Polymerase chain reaction*), koja umnožavajući ciljanu gensku sekvencu specifičnog *ureA* gena, detektuje *H. pylori* kada je on prisutan samo u tragu. Ovakva situacija najbolje se može sagledati na primeru detekcije *H. pylori* u žučnim vodovima.

Patogeneza. Kao i kod ostalih ekstragastričnih manifestacija *H. pylori* infekcije najpre se postavlja pitanje na koji način *Helicobacter* dopire do žuči i koji je put njegovog širenja? Moguće je da *H. pylori* antigeni difunduju kroz inflamiranu želudačnu mukozu (4), što je eksperimentalno dokazano na životinjama (5,6) i što ukazuje da antigeni *Helicobacter*-a mogu penetrirati u krvne sudove i senzibilisati leukocite. Kada supstance koje produkuje *H. pylori* dospeju u portni sistem (i limfatični sistem) inficiranih bolesnika, one mogu eventualno biti izlučene u žučnu kesicu preko jetre. Drugi mogući put penetracije *H. pylori* u žuč može biti i kroz Oddi-jev sfinkter, što se dešava kada crevne bakterije prođu u hloedohus nakon sfinkterotomije ili biliointestinalne anastomoze. Ova stanja u prisustvu stenoze hloedohusa mogu dovesti do stvaranja sekundarne bilijarne litijaze (7). Mogući put širenja je i preko M ćelija, koje inicijalno preuzimaju *H. pylori*, a koje se nalaze u portnoj cirkulaciji i koje *H. pylori* predaju jetri i žučnoj kesici (8). Takođe je moguće da se *Helicobacter* razgrađuje pod uticajem žuči u crevima, pa onda prateći apsorpciju žučnih soli enterohepatičnom cirkulacijom dospeva u jetru. Afinitet koji *Helicobacter* pokazuje prema holesterolu, a koji uključuje verovatno hemotaktički i adherentni faktor (9), može predstavljati kariku vezivanja *H. pylori* antigena za holesterol iz žuči.

Metode i materijal. Za detekciju *H. pylori* u uzorcima žuči danas se najčešće koristi tzv. "nested" PCR, odnosno "ugnježdena" PCR reakcija (10). Gen koji je veoma pristupačan za amplifikaciju i čiji se sastav zna, jeste *ureA* gen. Ovo je gen koji obavezno sadrži svaki *H. pylori* i koji nije podložan mutacijama u visokom stepenu. Sintetisana su dva para prajmera za nested PCR reakciju, spoljni (5'-GCCAATGGTAAATTAGTTCC-3' i 5'-TTACTCCTTA-ATTGTTTTAC-3') i unutrašnji (5'-TTCTTTGAAGTGAATAGATGC-3' i 5'-ATAGT-TGCATCGCTTT TAGC-3').

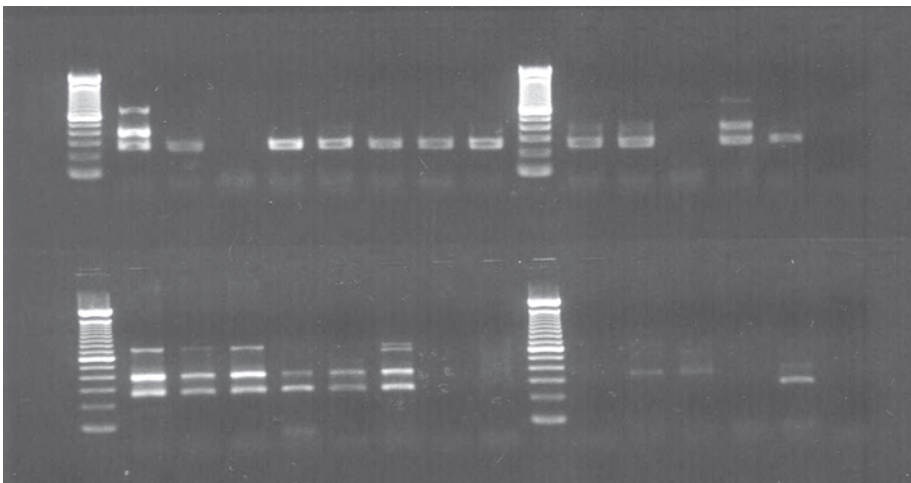
PCR ostavlja kao definitivne produkte veliku količinu sekvenci DNA koje su planirane za amplifikaciju i one imaju svoju određenu molekulsku masu. Finalni PCR produkt ima

molekulsku masu 258 bp (base-pairs), odnosno parova baza. Ovakvi produkti se najbolje mogu analizirati elektroforezom u agarozu gelu.

Naša klinička i molekularno biološka ispitivanja *H. pylori* u pacijenata sa bilijarnim oboljenjima izvedena su na mnogo većem uzorku nego studije iz literature. (11) Ispitivanu grupu sačinjavalo je 83 bolesnika (47.2% muškaraca i 52.8% žena, prosečna starost 57.69 godina). Kod svih ispitanika je na Institutu za bolesti digestivnog sistema, UKCS u Beogradu, urađena endoskopska retrogradna holangiopankreatografija (ERCP), tokom koje su uzeti uzorci žuči aspiracijom. Laboratorijski deo ispitivanja (PCR) obavljen je u gastroenterološkoj laboratoriji Medicinskog fakulteta u Rostoku.

Rezultati. Na osnovu kliničkog ispitivanja, najveći broj ispitanika uključenih u ovu studiju imao je bilijarnu litijazu (55.2%). Kod ostalih je dominirao nalaz inflamacije bilijarnog stabla (19.5%) ili tumora (adenokarcinom) bilijarnog stabla (17.2%), dok je 7 (8.1%) bolesnika imalo normalan nalaz, pa su oni predstavljali kontrolnu grupu.

Određivanjem prisustva *H. pylori* infekcije u uzorcima žuči metodom PCR (slika 1), u ispitanika sa normalnim ERCP nalazom, holedoholitijazom, holangitisom i tumorima holedohusa, došlo se do sledećih rezultata: ispitanici sa normalnim ERCP nalazom imaju pozitivan PCR u 14% slučajeva, dok ispitanici sa tumorom holedohusa i žučne kesice imaju pozitivan PCR kod 80% slučajeva, što predstavlja visoko statistički značajnu razliku (Fischer-test $p=0.06$, $p<0.01$). Kod ispitanika sa nemalignom patologijom nije primećena statistička razlika u prevalenciji *H. pylori* infekcije u žuči u odnosu na kontrolnu grupu (holedoholitijaza-Chitest, $\div+=3.638$, $p>0.05$; holangitisi-Fischer, $p=0.08$, $p>0.05$).



Detekcija DNA *H. pylori* iz uzorka žuči metodom nested PCR, elektroforezom na 2% agarozu gelu

Diskusija. Žučne kiseline u fiziološkim koncentracijama inhibišu rast različitih vrsta intestinalnih bakterija *in vitro*. (12,13) Anaerobne gram-negativne intestinalne bakterije, u koje spadaju laktobacili i klostridije, su osetljive na nekonjugovane žučne kiseline, kao što su holna,

dezoksiholna i litholna kiselina. Kako je *H. pylori* gram-negativna bakterija, ona takođe pokazuje senzitivnost *in vitro* na dezoksiholnu i henodezoksiholnu kiselinu. (14) Ove dve žučne kiseline su glavne slobodne žučne kiseline u humanoj žuči. Međutim, pod raznim patološkim stanjima, ovaj inhibitorni faktor rasta *H. pylori* može biti promenjen; na primer, koncentracija različitih materija u žuči koju može izazvati bilijarna opstrukcija. (15,16)

Mada izgleda da *H. pylori* ne može da raste u prisustvu žuči, neke druge *Helicobacter* vrste mogu da žive u žučnoj kesici (*H. hepaticus*, *H. pullorum* i *H. bilis*). (17) Fox i saradnici detektovali su *H. bilis*, *H. pullorum* i *H. rappini* metodom PCR u 23 bolesnika sa hroničnim holecistitisom, ali nijedan slučaj uzorka žuči nije kasnije u kulturi pokazao prisustvo navedenih vrsta *Helicobacter*-a.

Nedavna ispitivanja posvećena proučavanju *Helicobacter sp.* u različitim oboljenjima žučnih vodova i jetre su pokazala da *Helicobacter* može opstati u humanoj žuči, a ne samo u želucu i da može biti uzrok raznih hepatobilijarnih oboljenja. Iz tog razloga Roe i saradnici (18) su ispitivali preživljavanje *Helicobacter sp.* u žuči bolesnika sa različitim oboljenjima bilijarnog sistema, koja je sadržala izmenjene žučne kiseline ili žučne kiseline na koje je *H. pylori* bio otporan. U studiju su uključeni bolesnici sa intrahepatičnom litijazom, karcinomom pankreasa i karcinomom holedohusa. Žuč je dobijena metodom PTBD i ispitivana na prisustvo 16s rRNA specifičnog gena *H. pylori* metodom PCR, čime su dobijeni produkti od 375bp. Posle sekvenciranja i analize sekvenci 80% PCR produkata odgovaralo je genomu *H. pylori*, dok su ostalih 20% odgovarali genomu *H. bilis*. Na osnovu rezultata autori zaključuju da je *H. pylori* najvažniji i najčešći uzročnik infekcije od svih sojeva *Helicobacter sp.* u oboljenjima žučnih vodova u ljudi.

Od ranije je ukazano da *Helicobacter spp.* egzistiraju u bilijarnom sistemu i žučnoj kesici bolesnika čileanske populacije (19) i da su jedan od glavnih uzroka hronične inflamacije koja može stimulisati formiranje bilijarnih kamenaca. Ponzetto i saradnici (20) ispitivali su prisustvo *Helicobacter sp.* u žuči i sluzokoži žučne kesice bolesnika sa holelitijazom i prevalenciju *H. pylori* antitela u serumu obolelih. Infekcija sa *H. pylori* je bila signifikantno češća u bolesnika sa holelitijazom nego kod kontrola, a takođe i prisutna *H. pylori* DNA u žuči obolelih.

Udruženost *H. pylori* infekcije i nastajanje kamenaca u žučnoj kesici, do sada nije moguće objasniti. Međutim, Offner i saradnici (21) su nedavno ukazali na prisustvo proteina molekulske težine 130 kDa u žuči, koji je bio sposoban da započne holesterolsku kristalizaciju. Cetta (22) ukazuje da akumulacija bakterijskih produkata u žuči može izazvati holesterolsku nukleaciju, hidrolizu konjugovanog bilirubina i precipitaciju nerastvorljivih organskih kalcijumskih soli, te je u takvoj žuči moguće otkriti prisustvo proteina kao što su imunoglobulini koji takođe mogu dovesti do kristalizacije holesterola. (23)

Zaključak. Na osnovu stranih i naših kliničkih i laboratorijskih ispitivanja moguće je izvesti zaključak da je metoda PCR visoko specifična i senzitivna za određivanje genskih sekvenci *H. pylori* u žuči, gde se njegov genski materijal nalazi u ekstremno malim koncentracijama. S obzirom na antigena svojstva, *H. pylori* se može smatrati i jednim od uzroka

geneze holesterolskih kamenaca u žučnoj kesici. Pored toga može se reći da su pojedina patološka stanja žučnih vodova, a naročito tumori (adenokarcinom), povezana sa prisustvom *H. pylori* infekcije.

LITERATURA:

1. Hazell SL, Borody Tj, Gal A, et al. *Campylobacter pyloridis*. I. Detection of urease as a marker of bacterial colonisation and gastritis. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:292-6.
2. Clayton CL, Wren BW, Mullanu P, et al. Molecular cloning and expression of *Campylobacter pylori* species-specific antigens in *Escherichia coli* K-12 *Infect Immun* 1989; 57:623-9.
3. Clayton CI, Pallen MJ, Kleanthous H, et al. Nucleotide sequence of two genes from *Helicobacter pylori* encoding for urease subunits. *Nucleic Acids Res* 1990; 18:362.
4. Mai UHE, Perez-Perez G, Allen JB, et al. Surface protein from *Helicobacter pylori* exhibit chemotactic activity for human leukocytes and are present in gastric mucosa. *J Exp Med* 1992; 175:517-25.
5. Kurose I, Granger DN, Evans DJ, et al. *Helicobacter pylori*-induced microvascular protein leakage in rats: Role of neutrophils, mast cells, and platelets. *Gastroenterology* 1994; 107:70-9.
6. Yoshida N, Granger DN, Evans DJ, et al. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 1993; 105:1431-40.
7. Cetta F. Do surgical and endoscopic sphincterotomy prevent or facilitate recurrent common duct stone formation? *Arch Surg* 1993; 128:329-36.
8. Hornick RB. Enteric fever. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds.). *Infections of the Gastrointestinal Tract*. New York: Raven Press, 1995; pp 325-32.
9. Ansorg R, Muller K-D, von Recklinghausen G, et al. Cholesterol binding of *Helicobacter pylori*. *Zbl Bacteriol* 1992; 276:323-29.
10. Clayton CL, Kleanthous H, Coates PJ, et al. Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30:192-200.
11. Bulajic M. *Helicobacter pylori* u oboljenjima bilijarnog stabla. Beograd: Magistarska teza, 2000
12. Flock MH, Gerhengoren W, Elliott S, et al. Bile acid inhibition of intestinal microflora. A function of simple bile acid? *Gastroenterology* 1971; 61:228-33.
13. Wilhams RC, Showalter R, Kern F. The effect of bile salt and cholestyramine on intestinal anaerobic bacteria. *Gastroenterology* 1975; 69:483-91.
14. Hanninem ML. Sensitivity of *Helicobacter pylori* to different bile salts. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10:515-8.
15. Michael A, Lary MD, Donald E, et al. Sphincter incompetence caused by common bile duct stones. *Surgery* 1983; 93:538-40.
16. West AP, Millard MR, Tompkins DS. Effect of physical environment on survival of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1992; 45:228-31.

17. Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, et al. Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology* 1998; 114:755-63.
18. Roe IH, Kim JT, Shin JH, et al. Identification of *Helicobacter pylori* in human bile from the bile duct diseases. Abstract and itinerary planner DDW 2000; A2499.
19. Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, et al. Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology* 1998; 114:755-63.
20. Ponzetto A, Vergnano G, Soldati T, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in the bile of patients with cholelithiasis. Abstracts UEGW Roma 1999; P0360.
21. Offner GD, Gong D, Afdhal NH. Identification of a 130-kDa human biliary concavalin A binding protein as aminopeptidase N. *Gastroenterology* 1994; 106:755-62.
22. Cetta F. The role of bacteria in pigment gallstone disease. *An Surg* 1991; 213:315-26.
23. Harvey PRC, Upadhyya GA, Strasberg SM. Immunoglobulins as nucleating proteins in the gallbladder bile of patients with cholesterol gallstones. *J Biol Chem* 1991; 266:13996-03.

DIJAGNOSTIKA HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJE

Ivana Jovičić i Snežana Lukić

SAŽETAK

Postoje brojne metode za dijagnostiku *Helicobacter pylori* infekcije. Ove metode obuhvataju invazivne i neinvazivne procedure. Invazivne podrazumevaju gornju gastrointestinalnu endoskopiju, uz biopsiju, da bi se dobio uzorak za analizu, dok kod neinvazivnih kao uzorak može poslužiti puna krv, serum, saliva, uzorak stolice, mokraća i uzorak izdahnutog vazduha. Trebalo bi imati dijagnostičke testove koji su tačni sa stanovišta dijagnostike datog pacijenta i ekonomski isplative tetsove na nivou skrining testova za ispitivanje populacije. Postoji veliki broj dijagnostičkih testova: brzi ureaza test, histologija, kultura, PCR, ¹³C-urea izdisajni test, serološke metode i test antigena stolice. Brzi ureaza test je vrlo tačan i pogodan za izvođenje. Kulture pokazuju visoku specifičnosti omogućavaju određivanje rezistencije na antibiotike. Test antigena stolice i ¹³C-ureja izdisajni test su pouzdani neinvazivni testovi, koji detektuju aktivnu infekciju, a imaju visoku dijagnostičku tačnost pre i posle lečenja. Serološki testovi se upotrebljavaju kao orjentacioni testovi. Odluka o izvođenju konkretnog testa treba da bude zasnovana na kliničkoj proceni, performansama testa, prevalencije infekcije u datoj zajednici, ceni testa, dostupnosti testa i pogodnosti za izvođenje. Testirane su strategije različitih kombinacije sekvencijalnog testiranja. Strategija izvođenja potvrdnog testa za negativan rezultat se pokazala kao vrlo korisna u situaciji kada je verovatnoća infekcije *Helicobacterom pylori* velika. Obrnuto, kada je verovatnoća da test bude pozitivan mala, korisno je uraditi potvrdni test za pozitivne rezultate.

Ključne reči: *Helicobacter pylori*, dijagnostika

SUMMARY

There are many methodes available for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. These diagnostic methodes include invasive and noninvasive methods. Invasive require upper gastrointestinal endoscopy to gain material for diagnosis, wheteas noninvasive can be performed on whole blood, serum, saliva, feces, urine or expired breath samples. There should be an accurate diagnostic procedure at an individual level and a cost-effective population screening procedure. A large number of diagnostic tests are available: rapid urease test, histology, culture, PCR, ¹³C urea breath test, serological test and stool antigen test. The rapid urease test is high accurate and vary convenient. Culture yields high specificity and allows the determination of strain resistance against antibiotics. The stool antigen test and ¹³C urea breath test are reliable noninvasive tests that detect active infection, with a high diagnostic accuracy in pre- and posttreatment conditions . Serological test should be used for screening. The decision to use one test rather than another depends on the clinical circumstances, the reported test parameters, prevalence of infection in the community, cost , convenience and the availability of the test. Combination of sequential testing strategies was evaluated. Strategies using confirmatory testing for negative results would be useful for situations where the patient has a high pre-test probability for *Helicobacter* infection. Conversely, confirmatory testing of positive results would be valuable in situations where the patients has a low pre-test probability of infrction.

Key words: *helicobacter pylori*, diagnostics

UVOD

Metode za dijagnostikovanje *Helicobacter pylori* infekcije su podeljene na invazivne i ne invazivne. U invazivne metode spadaju metode koje zahtevaju endoskopiju-brzi ureaza test,

histologija, kultura i PCR, dok se u ne invazivne ubrajaju urea izdisajni test, serološke metode i HpSA test. Procena vrednosti svakog testa za dijagnostiku *Helicobacter pylori* se vrši na osnovu sposobnosti testa da indentifikuje pacijente koji su stvarno inficirani (senzitivnost) i one koji nisu (specifičnost). Pozitivna i negativna prediktivna vrednost testa menjaju se sa promenom prevalencije *Helicobacter pylori* infekcije. Za adekvatan izbor testa bitna je i klinička procena kolika je verovatnoća da je infekcija prisutna kod datog pacijenta, prevalenca infekcije *Helicobacter pylori* u datoj oblasti (zemlji), koliko je test zahtevan i neprijatan za izvođenje po pacijenta, cena i dostupnost testa.

BRZI UREAZA TEST (RUT)

Brzi ureaza test isečka sluznice je najčešće primenjivan test u kliničkoj praksi. Prvi komercijalno dostupni brzi ureaza test, CLO test, je usavršio B.Maršal. Danas se na tržištu nalaze različite varijante ovog testa- Jatrox test, Bramio test, Hpfast, PyloriTek. Svi brzi ureza testovi su zasnovani na principu ureazne aktivnosti: ukoliko je *H.pylori* prisutan u biopsijskim isečcima sluznice, ureaza će izazvati razlaganje ureje na amonijak i CO₂. Oslobođeni amonijak će izazvati povećanje pH sredine, što detektuje indikator promenom boje od žućkaste u roze-ljubičastu.



Brzi ureaza test (CLO test)

Senzitivnost brzog ureaza testa se kreće oko 90%. Ispitivan je uticaj veličine isečka sluznice, broja biopsija, kao i temperature na brzinu ureaza testa. Studija Lain L i saradnika (1) je pokazala da CLO test postaje brže pozitivan, ako je biopsijski isečak veći, a pojedini autori su istakli da se senzitivnost testa povećava, uzimanjem većeg broja biopsija (2,3). Iako zagrevanje ubrzava ureaza test, nije pokazana statistički značajna razlika između testova kod kojih je vršena inkubacija na određenoj temperaturi i testova koji su sprovedeni na sobnoj temperaturi (4). Teorijski, najoptimalnija temperatura za delovanje enzima ureaze je 42C (5), ali zahteva specijalnu opremu, pa se najčešće zagrevanje vrši na 37C.

Specifičnost brzog ureaza testa je ujednačena i iznosi od 95% do 100%. Lažno pozitivni rezultati mogu biti izazvani *Stafilokokusom* ili *Streptokokusom*, *Helicobacterom heilmannii*, bakterijskim vrstama *Enterobacteriaceae* ili *Pseudomonasa*, koji su, takođe, ureaza produkujuće bakterije. Najzad, lažno pozitivni rezultati se mogu javiti ako se test pročita posle perioda inkubacije, koji je preporučio proizvođač.

Lažno negativni rezultati su mogućí, ukoliko je bolesnik predhodno uzimao omeprazol, antibiotike i preparate bizmuta, verovatno zbog smanjenja broja bakterija ispod praga neophodnog za promenu boje na testu (10000-100000 bakterijskih kolonija/ml)(6). Zbog toga brzi ureaza test ima važno mesto u inicijalnoj dijagnozi. H.pylori infekcije i ne preporučuje se za verifikaciju eradikacije.

Pojava lažno negativnih rezultata je zabeležena i kod krvarenja iz ulkusa(7,8,9). Iako su razlozi za ovo nepoznati, preliminarne studije su ukazivale da mešavina krvi, želudačnog i duodenalnog sadržaja, uključujući žuč, mogu učiniti test lažno negativnim(10). Međutim, noviji radovi odbacuju pretpostavku da krv utiče na pojavu lažno negativnih rezultata ureaza testa kod krvarenja iz gornjih delova gastrointestinalnog trakta(11,12,13). Takođe, upotreba metilen plavog tokom endoskopije, za detektovanje intestinalne metaplazije, može dati lažno negativne rezultate, verovatno zbog baktericidnog dejstva ove boje(14). Zbog toga se biopsije za ureaza test moraju uzimati pre početka bojenja.

BAKTERIJSKA KULTURA

Bakterijska kultura je teorijski zlatni standard za detekciju H.pylori i jedini metod, koji omogućava određivanje antibiograma, naročito u slučajevima bakterijske rezistencije ili alergije na antibiotike. Iako je senzitivnost metode preko 95%, a specifičnost 100%, drugi testovi su u široj upotrebi zbog svoje jednostavnosti i kraćeg perioda inkubacije.

Biopsijski isečci sluznice antruma se transportuju do laboratorije u određenim uslovima, zbog osetljivosti bakterije na kiseonik, kao i zbog ograničenog preživljavanja na sobnoj temperaturi(optimalna temperatura za transport je ispod 10C)(15). Transport isečaka sluznice pola sata posle endoskopije se može obaviti u suvoj sterilnoj epruveti, a ako je od endoskopije prošlo manje od 4 sata, uzorci se potapaju u fiziološki rastvor ili rastvor 20% glukoze(16,17). Ukoliko nije moguće odmah slati uzorke za kultivisanje u laboratoriju, moraju se koristiti transportni medijumi, kao što je Stuart medijum, Portagerm ili čokoladni agar(unutar 24 sata od biopsije)(15,16,18), ili se uzorci zamrzavaju na -70C, u miksturi glicerola (unutar mesec dana od biopsije)(19). Za kultivisanje H.pylori se koriste različite selektivine i neselektivne podloge.

Kulture H.pylori se dobijaju u mikroaerobnim (5% kiseonika), hiperkapničkim uslovima, na temperaturi od 37C, obično za 3 do 5 dana, a najviše za 10 dana. Pozitivna kultura se indentifikuje nalaženjem zakrivljenih, spiralnih, Gram-negativnih bakterija, pozitivnih na ureazu, katalazi i oksidazu.

LANČANA REAKCIJA POLIMERAZE (PCR)

Princip testa: Ovaj metod omogućava indentifikaciju gena. Željena sekvenca DNA se indentifikuje upotrebom specifičnih prajmera (obeleživača), ona se umnožava, tako da se dobija dovoljna količina DNA za analizu i potvrđivanje infekcije Helicobacterom pylori.

Praktično izvođenje: Uzorak se stavlja u poseban pufer koji omogućava lizu tkiva i pristupačnost DNA, a zatim se vrši umnožavanje gena. Kao uzorak može poslužiti: bioplat

sluznice želuca (sveže uzet, čuvan na -20°C, formalinom fiksiran ili iz parafinskih kalupa), želučani sok, saliva, dentalni plakovi, holesterinski žučni kamenčići i stolica. Zavisno od načina uzimanja uzorka koji se analizira ova metoda se može klasifikovati kao invazivna ili neinvazivna metoda. Postoje različite modifikacije ove metode. Razvijeni su brojni prajmeri za različite gene: ureA, ure B, 16S rRNA gen, ureC (glm M), cagA, 23S rRNA gen, vacA, hpa A i mnoge druge.

Primenljivost: PCR je senzitivn i objektivan test, koji daje brze rezultate. Senzitivnost i specifičnost testa u mnogome zavisi od izbora gena sa kojim se radi proba. Zbog osetljivosti metode, koja može praktično da detektuje genetski materijal malog broja bakterija (oko 6 i manje) u uzorku, nameće se pitanje objektivnog procenjivanja specifičnosti i senzitivnosti metode (koju metodu uzeti kao referentnu?). Po nekima je osetljivija od rapidnog ureaza testa, kulture i histologije (nađena je bolja korelacija sa endoskopskim nalazom), pa se može koristiti kao potvrđan test u slučaju negativnosti predhodnih testova (ureA). Drugi autori veću tačnost nalaze u histologiji i kulturi a senzitivnost PCR procenjuju na 92,3% a specifičnost na 99% (vacA, 16SrRNA). U uzorcima stolice senzitivnost je 93,7%, a specifičnost 100%. Najveći broj autora ipak ne preporučuje PCR u rutinskom kliničkom radu. Ova metoda daje i mogućnosti ispitivanja uticaja pojedinih proteina (odnosno njihovih adekvatnih gena ili mutacija gena) u patogenezi, njihov uticaj na virulenciju, kao faktori rizika za nastajanje određenih patoloških promena, korelacija između prisustva određenih gena i kliničko patološke slike(20), stepena promena, promene genetskog materijala bakterije(21). Primenjuje se i za ispitivanje gena koji su povezani sa antibiotskom rezistencijom. Tako određivanje 23S rRNA gena-mutirane forme je bitno za određivanje rezistencije prema klaritromicinu. Ovaj test je pogodan, pouzdan (osetljivost na klaritromicin je određena u 92,3%) i rezultati se brzo dobijaju (za 3-4 sata)(22). S druge strane PCR je posebno vredna metoda za praćenje efekta eradikacione terapije u vremenu kada je broj bakterija u sluznici želuca mali i ne može se dijagnostikovati drugim dijagnostičkim sredstvima. Ako se prati efekat terapije preko uzoraka stolice, pozitivni rezultati se mogu dobiti kod uspešno sprovedene eradikacione terapije i do 12 nedelje po prestanku uzimanja lekova(23). Ispituju se metode i određivanja kvantiteta DNA, odnosno bakterija. Mogućnost upotrebe ranijih preparata (smrznutih, formalinom fiksiranih ili iz parafinskih kalupova) omogućava retrospektivne studije. Ova metoda ne daje podatke o vijabilnosti bakterija.

UREJA IZDISAJNI TEST (UBT)

Princip testa: Test se zasnima na sposobnosti *Helicobacter pylori* da svojim enzimom ureazom hidrolizuje unetu ureju do CO₂ i amonijaka. CO₂ odmah difunduje kroz gastričnu mukozu u cirkulaciju, a iz organizma se eliminiše izdahnutim vazduhom. Da bi se razlikovao CO₂ ovako stvoren i onaj koji nastaje drugim metaboličkim procesima u organizmu, kao obeleživači se upotrebljavaju izotopi ugljenika.

Praktično izvođenje: Pacijentu se daje da konzumira obeleženu ureju. Uzimaju se uzorci izdahnutog vazduha pre i posle testa. Koriste se izotopi ugljenik ¹³C i ¹⁴C. Treba istaći da je

izotop ugljenika ^{14}C radioaktivan a da ^{13}C nije, pa je zbog toga ^{13}C metoda u široj upotrebi (primenjuje se i kod dece). Doza radioaktivnosti pri jednom testiranju sa ^{14}C je 1mCi, što je jednako dozi kojoj je čovek izložen u toku dana iz prirodnih izvora, ili oko 1000 manja od doze zračenja pri standardnom rentgenskom snimanju žlutca. Postoje različiti protokoli u pogledu potrebe za gladovanjem pre testa, oblika i količine unete ureje, potrebe za test obrokom i sastavom test obroka, vremena i načina uzimanja uzoraka izdahnutog vazduha posle testa, kao i u pogledu granica pozitivnosti testa, a koristi se različita oprema detekciju izotopa.

Primenljivost : Ovaj test spada u neinvazivne testove i smatra se jednim od najznačajnijih i najpouzdanijih testova ("zlatni standard") za dijagnostiku infekcije *Helicobacter pylori*. Prednost mu je što se njime dobija slika o stanju kompletne želudačne mukoze, te se izbegava greška u uzimanju uzorka. Senzitivnost testa je visoka (do 93% za ^{14}C , oko 98-100% ^{13}C), a takođe i specifičnost (do 100% za ^{14}C i ^{13}C) (24,25). U dijagnostici se može koristiti samo ovaj test, kao skrining test pre izvođenja endoskopije ili kao potvrdni test za druge skrining testove (za potvrđivanje pozitivnih ili negativnih rezultata zavisno od prevalencije infekcije)(26). Kod krvarećih ulkusa najpouzdaniji je test (ako se izvodi prvog dana). Ureja izdisajni test se može primenjivati i u praćenju efikasnosti eradikacione terapije(27). Izvodi se posle 4-6 nedelja od eradikacionog tretmana (senzitivnost > 95%, specifičnost 96%, >99% poklapanja sa biopsijskim testovima). Rezultatai se dobijaju i nekoliko nedelja ranije od seroloških testova. Može se pratiti i dinamika infekcije posle određenih lekova (npr. bizmuta). Neki autori su našli povezanost količine obezbeženog CO_2 i kvantitativnih rezultata kulture iz biopsiskog materijala, histoloških rezultata ili čak stepena aktivnosti gastritisa, ali ovi nalazi nisu opšteprihvaćeni. Koristan je test u epidemiološkim studijam, jer se dobijaju podatci o aktivnoj infekciji a ne samo o kontaktu sa *Helicobacter pylori*.

Moguće greške: Teoretski lažno pozitivan rezultat može biti posledica ureazne aktivnosti bakterija orofaringealne, intestinalne ili želudačne sluznice (u slučaju hipohloridije). *Helicobacter heilmannii* može davati lažno pozitivne rezultate. Lažno negativni rezultati su primećeni posle lekova, pa je preporučeno da se određeni lekovi isključe pre testa (antibiotici- mesec dana, solimi bizmuta- mesec dana, inhibitori protonske pumpe- 5-30 dana, najčešće 14 dana, H2 blokatori 5-7 dana). Pacijenti posle gastrektomije imaju lažno negativne rezultate, kao i kod kolonizacije žlutca malom količinom *Helicobacter pylori*.

SEROLOGIJA

Princip testa : U osnovi seroloških testova stoji reakcija antigen antitelo. Infekcija *Helicobacter pylori* izaziva pojavljivanje antiela kod pacijenata : IgG u 95%, IgA u 66% (kod 5% su prisutna samo ova antitela) a IgM u oko 10% pacijenata. Razvijeni su različiti testovi na osnovu načina za vizuelizaciju (detekcije) ove reakcije.

Praktično izvođenje : Uzorak se stavlja u test kit. Kao uzorak za određivanje antitela može služiti puna krv, serum, saliva, i urin (želudačni sok-eksperimentalno), pa nema grešaka u uzimanju uzorka kao kod biopsija. Testovi koji se primenjuju su ELISA, imunohromatografski testovi, Western blot a retko aglutinišući testovi (latex ili hemaglutinišući), test indirektno imunoflorescence, komplement fiksirajući testovi.

Primenljivost: Ovi testovi spadaju u neinvazivne testove. Mogu imati ulogu u otkrivanju infekcije *Helicobacter pylori*, detektovanju patogenih markera infekcije, ukazivanju na aktivnost infekcije i praćenju efekta terapije. Treba naglasiti da prisustvo antitela označava samo da je organizam došao u kontakt sa bakterijom, a ne i to da li je bakterija aktuelno prisutna. Kada je prevalencija *Helicobacter pylori* infekcije mala (30%) ili srednja (<60%) serološki testovi imaju relativno slabu tačnost u poređenju sa testovima stolice i ureja izdisajnim testom (26).

ELISA su testovi u najširoj upotrebi. Jeftini su (mada je kod nas cena veća u odnosu na invazivne testove) i brzo se dobijau rezultati. Najbolji testovi postižu specifičnost 100% i senzitivnost 96% ali ove vrednosti variraju (interval 85-100% i 86-100%) zavisno od upotrebljenih antigena u testu, referentne vrednosti, upotrebe antibiotika, populacije koja se testira, drugih bolesti... Određivanjem IgG i IgA antitela moguće je indentifikovati skoro sve inficirane pacijente. IgM govore o postojanju akutne infekcije (28). Mogu se koristiti kao testovi za dijagnostiku (skrining), sami ili u kombinaciji sa drugim neinvazivnim, ili kao uvodni testovi za endoskopske procedure. Preporučuju se za testiranje mlađe populacije (ispod 45 godina bez alarmantnih simptoma). ELISA omogućava i praćene imunog odgovora na pojedine značajne antigene (patogene markere infekcije): VacA, CagA(29)..., i poveznost sa bolestima (npr karcinomom) tj izdvajanje pacijenata koji zahtevaju tretman da bi se sprečile komplikacije. U dijagnostici aktivnosti procesa u želucu mogu se pridodati testovi koji određuju koncentracije gastrina i pepsinogena I i II. ELISA ima primenu i u praćenju efekta eradikacione terapije. Značajan pad titra antitel se javlja 4-6 nedelja posle terapije. Posle 6 nedelja od uspešne terapije beleži se pad od 30%, a ova pad se nastavlja narednih 9 meseci (pravilo: viši titar antitela potrebno je duže vreme da se vrata na normalu). Posle neuspešne eradikacione terapije titar antitela ostaje na tom nivou ili se vraća na vrednosti pre terapije. Mana je što se čeka suviše duga na rezultat o uspešnosti terapije. Ovi testovi su preporučeni za populacione studije preporučeni gde se prevalenca procenjuje na preko 60%. Mogu se analizirati uzorci koji su ranije zamrznuti što se može iskoristiti za retrospektivne populacione studije ili za praćenje prirodnog kursa ove hronične infekcije. Postoje ELISA testovi za urin (senzitivnost je 86%, specifičnost 91%) i salivu (senzitivnosti 81%, specifičnosti 73%), mogu se eventualno koristiti u epidemiološkim studijama (zbog jeftinoće i lake upotrebe).

Lateks aglutinišući i imunohromatografski testovi su razvijeni kao testovi iz pune krvi za izvođenje "pored pacijenta". Rezultati se dobijaju brzo (za par minuta), koriste se kao orijentacioni testovi za dijagnostiku u opštoj praksi. Postoje brojni imunohromatografski testovi za detekciju antitela iz pune krvi. Generalno imaju nižu specifičnost i senzitivnost. (najbolji imaju specifičnost do 98%, senzitivnost do 90% a tačnost do 96%)(30). Postoji imunohromatografski metod za određivanje IgG antitela iz uzorka urina. Snezitivnost je 95.3% a specifičnost 96.7% (31). Rezultati dobijaju za 20minuta, a test je relativno pouzdan i može se koristiti u kliničkim i epidemiološkim studijama.

Western blot testovi su razvijeni za detekciju specifičnih markera virulencije bakterija. Ovi testovi su pokazali dobru specifičnost (92.6%), senzitivnost (95.6%) i prediktivnu vrednost preko 90%.(32). Malo se koriste u rutinskom radu.

DETEKTOVANJE H.PYLORI U UZORCIMA STOLICE

U poslednjih nekoliko godina koristi se više metoda za dokazivanje H.pylori u uzorku stolice-kultura, PCR i imunološka ispitivanja. Brojne laboratorije su pokušavale da optimalizuju uslove za gajenje kolonija H.pylori iz stolice. Pokušaji su imali ograničeni uspeh ako je bakterija u stolici bila u nekulturablenoj (kokoidnoj) formi. (33,34).

Od imunoloških metoda danas je u upotrebi test za dokazivanje antigena H. pylori u stolici-HpSA (H.pylori stool Antigen) test. Prema preporuci američkog ministarstva za hranu i lekove(FDA), test se primenjuje za dijagnostikovanje infekcije kod bolesnika koji imaju simptome, kao i za praćenje uspeha eradikacione terapije. Uzorci stolice se mogu zamrznuti i čuvati tokom nekoliko dana ili nedelja. Test se zasniva na tome da skok H.pylori antigena dovodi do promene boje, što se očitava spektrofotometrijski. Ako je rezultat manji od 0,140 test je negativan, rezultat između 0,140 i 0,159, ukazuje da test treba ponoviti, a ako je preko 0,160 da je test pozitivan, odnosno da je bolesnik inficiran H.pylori. Prema različitim autorima, senzitivnost testa iznosi oko 95%, dok je specifičnost oko 99%.(35,36,37). Prednosti HpSA testa su što je jeftin, jednostavan za izvođenje, podesan za naučna istraživanja. Značajna prednost ove metode je i što obezbeđuje veliku tačnost u kratkom vremenskom intervalu posle eradikacione terapije, te se može koristiti u proceni uspešnosti lečenja H.pylori infekcije.(38, 36).

ZAKLJUČAK

Svaka od navedenih dijagnostičkih metoda ima svoje prednosti i nedostatke. U kliničkoj praksi najčešće korišćeni test je brzi ureza test, mada je njegova senzitivnost manja posle primene eradikacione terapije. Bakterijska kultura ima visoku specifičnost i omogućava određivanje antibiograma, ali je komplikovana za izvođenje. Urea izdisajni test i HpSA test su

Metod	Senzitivnost	Specifičnost
brzi ureaza test	90-95%	95-100%
bakterijska kultura	95%	100%
HpSA test	95%	99%
urea izdisajni test	95-100%	98-100%
serološki testovi	80-100%	80-100%
PCR	95-100%	99-100%
histologija	98%	98%

neinvazivni testovi koji imaju veliku dijagnostičku tačnost i pre i posle lečenja *H.pylori* infekcije. Serološki testovi imaju nešto manju dijagnostičku tačnost, pa bi ih trebalo koristiti u skriningu *H.pylori* infekcije ili kod bolesnika koji ne zahtevaju endoskopiju.(39,40,41).

Promovisane su i razne strategije:“testiraj i tretiraj”(za pacijente sa dispepsijom), “tragaj i tretiraj” (za pacijente sa ulkusom ili pacijente koji redovno uzimaju supresore kiseline), “testiraj pa skopiraj”. U poslednje vreme se predlaže kombinacija više dijagnostičkih testova (uzimajući u obzir ekonomski momenat) : kod niske (do 30%) prevalencije testovi fecesa uz UBT kao potvrđan test za pozitivne, kod srednje prevalencije (do 60%) UBT uz RUT za negativne, testovi fecesa uz UBT kao potvrđan test za negativne, a za visoku prevalenciju (preko 60%) UBT uz RUT i potvrdu negativnosti histologijom, ili testovi stolice uz UBT za negativne ili ELISA uz UBT za negativne.

LITERATURA

1. Lain L, et al. The influence of size or number of biopsies on rapid urease test results: a prospective evaluation. *Gastrointest Endosc* 1996;43:49-53.
2. Dotto P, et al. Can one more gastric corpus biopsy improve sensibility and specificity of CP- and CLO-tests? *Gut* 1994;35:1499.
3. Weston AP, et al. CLO test sensitivity and specificity is dependent upon the location and number of biopsies obtained. *Gastroenterology* 1995;108(suppl):A256.
4. Lain L, et al. The influence of warming on rapid urease test results. *Gastrointest Endosc* 1996;44:429.
5. Mobley HLT, et al. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1988;26:831-836.
6. Louw JA, et al. Omeprazole may clear but does not eradicate *H.pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992;4:481-485.
7. Lai KC, et al. Bleeding ulcers have high false negative rates for antral *H.pylori* when tested with urease test. *Gastroenterology* 1996;110:1167.
8. Colin R, et al. Poor sensitivity of direct urease test for detection HP on antral biopsies in bleeding ulcers. *Gastroenterology* 1997;112:A93.
9. Lee JM, et al. Rapid urease tests lack sensitivity in *Helicobacter pylori* diagnosis when peptic ulcer disease presents with bleeding. *Am J Gastroenterol* 2000;95(5):1166-70.
10. Lee JG, et al. The effect of storage, temperature, incubation conditions and contaminants on the sensitivity of CLO, Hpfast and PyloriTek for detection HP. *Gastrointest Endosc* 1997;45:AB95.
11. Perry M, et al. Admixture with whole blood does not explain false negative urease tests. *J Clin Gastroenterol* 2000;30(1):64-5.
12. Lee JM, et al. The effects of blood on rapid urease testing for *Helicobacter pylori* in mucosal biopsies from the gastric antrum. *Ir J Med Sci* 2000;169(1):60-2.
13. Archimandritis A, et al. Rapid urease test is less sensitive than histology in diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15(4):369.

14. Hack HM, et al. Testing negative for *H.pylori* after methylene blue spraying of gastric mucosa. *Gastrointest Endosc* 1994;40:397-98.
15. Soltesz V, et al. Optimal survival of *Helicobacter pylori* under various transport conditions. 1992;30:1453-56.
16. Kjoller M, et al.. Transport conditions and number of biopsies necessary for culture of *H.pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;10:166-67.
17. Han SW, et al. Transport and storage of *H.pylori* from gastric mucosal biopsies and clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:349.
18. Grove DI, et al. Isolation of *Helicobacter pylori* after transport from a regional laboratory of gastric biopsy specimens in saline, Portagerm pylori or cultured on chocolate agar. *Pathology* 2001;33(3):362-4.
19. Veenendaal RA et al. Effect of transport medium and transportation time on culture of *H.pylori* from gastric biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1993;46:561.
20. Andreson H, et al. Association of *cagA* and *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* with gastric diseases in Estonia. *J Clin Microbiol* 2002 Jan;40(1):298-300
21. Israel DA, et al. *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001 Dec 4;98(25):14625-30
22. Chisholm SA, et al. PCR-based diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection and real-time determination of clarithromycin resistance directly from human gastric, biopsy samples *J Clin Microbiol* 2001 Apr; 39 1217-1220.
23. Makristathis A, et al. Two Enzyme Immunoassay and PCR for Detection of *Helicobacter pylori* in Stool Specimens from Pediatric Patients before and after Eradication Therapy. *J Clin Microbiol* 2000 Oct; 38 (10): 3710-4
24. Rehnberg AS, et al. Refinement of the ¹⁴C -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 2001 Aug; 36(8): 822-6
25. Wang WM, et al. Simplified ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection—the availability of without fasting and without test meal. *Kaohsiung J Med Sci* 2000 Dec;16(12):607-13
26. Vakil N. Review article:the cost of diagnosing *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15 (Suppl. 1) 10-5
27. Yoshimura N, et al. A ¹³C-urea breath test in children with *helicobacter pylori* infection: assessment of eradication therapy and follow-up after treatment. *J Gastroenterol* 2001 Sep;36(9):606-11
28. Alem M, et al. Diagnostic Value of Detection of IgM Antibodies to *Helicobacter pylori*. *Exp Mol Pathol* 2002, Feb; 72(1) 77-83.
29. Torres J, et al. Specific Serum Immunoglobulin G Response to Urease and *CagA* Antigens of *Helicobacter pylori* in Infected Children and Adults in a Country with High Prevalence of Infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002 Jan;9(1):97-100
30. Faigel DO, et al. Evaluation of rapid antibody tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2000Jan; 95 (1) 72-7

31. Graham DY, et al. Rapid detection of anti-*Helicobacter pylori* IgG in urine using immunochromatography. *Aliment Pharmacol Ther* 2001 May;15(5):699-702
32. Monteiro L, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am J Gastroenterol* 2001 Feb;96(2):353-8
33. Kabir S. Detection of *Helicobacter pylori* in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. *J Med Microbiol* 2001;50(12):1021-9.
34. Dore MP, et al. Characterization of a culture method to recover *Helicobacter pylori* from feces of infected patients. *Helicobacter* 2000;5(3):165-8.
35. Coombs GW, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in faeces by enzyme immunoassay. *Pathology* 2001;33(4):496-7.
36. Vaira D, et al. The stool Antigen Test for detection of *Helicobacter pylori* after eradication therapy. *Ann Intern Med* 2002;136(4):280-87.
37. Metz DC. Stool testing for *Helicobacter pylori* infection: yet another noninvasive alternative. *Am J Gastroenterol* 2000;95(2):546-8.
38. Vaira D, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new noninvasive antigen-based assay. HpSA European study group. *Lancet* 1999;354(9172):30-3.
39. Nakamura RM. Laboratory tests for the evaluation of *Helicobacter pylori* infections. *J Clin Lab Anal* 2001;15(6):301-7.
40. Nishikawa K, et al. A prospective evaluation of new rapid urease test before and after eradication treatment of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, culture and 13-urea breath test. *Gastrointest Endosc* 2000;51(2):164-8.
41. Leodolter A, et al. Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis* 2001;19(2):116-22.

TERAPIJA HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJE

Tomica Milosavljević

SAŽETAK

Različita su shvatanja o indikacijama i protokolima lečenja *Helicobacter pylori* infekcije. Idealna eradikaciona terapija *Helicobacter pylori* trebala bi da bude jednostavna, bezbedna, efikasna, jeftina i da ima najmanje moguće neželjenih efekata. Posle konsenzusa u Maastrihu 1996. godine protokoli su postali jasniji, a dopuna iz 2000. godine unosi novo svetlo u preciznije određivanje grupa za indikaciju za eradikaciju infekcije. Protokol lečenja podrazumeva korišćenje tri leka u trajanju od 7 dana. Američke preporuke produžavaju uzimanje lekova na dve nedelje

Cilj ovog rada je prikaz indikacija i praktičnih terapijskih protokola za eradikaciju *Helicobacter pylori* infekcije.

Ključne reči: *Helicobacter pylori*, terapija, perspektive

ABSTRACT

There was confusion concerning treatment regimens. Europe has always tended to treat for 7 days, while the US is inclined to treat for 10-14 days. After current European consensus in the management of *Helicobacter pylori* infection (The Maastrich Consensus) the treatment regimens should be simple, well tolerated and achieve a high eradication rate. The eradication therapy should be based on proton pump inhibitor and combination of antibiotics: clarithromycin and amoxicillin for seven days.

The purpose of this review is to provide an update on the basic mechanisms and outcomes of *Helicobacter pylori* infection, and to place new information into clinical practise, diagnosis, therapy and future clinical perspectives.

Key words: *Helicobacter pylori*, therapy, perspectives

Glavni smerovi terapije *Helicobacter pylori* infekcije praktično su određeni već prvim radovima Marshalla. Naime, čitajući stari udžbenik interne medicine Williama Oslera, Barry Marshall je došao na ideju korišćenja preparata bizmuta, a zatim i antibiotika-pre svih tetraciklina, amoksicilina, metronidazola i tinidazola. U samom početku istraživanja *Helicobacter pylori* infekcije, Barry Marshall, zajedno sa kolegom Arthurom Morrisom iz Novog Zelanda dokazao je poslednji Kohov postulat. (1,2) Posle popijene kulture *Helicobacter pylori* vrlo brzo obojica su dobili akutni gastritis sa izraženim smetnja. Marshall se brzo i uspešno izlečio, a po rečima Warrena, Dr Morris i dalje mu šalje isečke svoje želudačne sluznice sa hroničnim gastritisom, koji nikako da izleči – dakle, varijabilnost ispoljavanja infekcije pokazana je već u prvim počecima iskustva sa *Helicobacter pylori* infekcijom.

Već prva studija Warrena i Marshalla (3) dvostruko slepe probe antibakterijskog lečenja peptičkog ulkusa pokazala je da posle eradikacije ima mnogo manje recidiviranja ulkusa, a da se histološke promene na sluznici želuca popravljaju i povlače. Bez obzira na njihov elegantan i ubedljiv dokaz koristi od eradikacione terapije infekcije, tek poslednjih godina svedoci smo

postizanja pravog konsenzusa u terapiji infekcije. Pre svega, mora se istaći činjenica da još uvek nema idelnog leka – idealna bi bila monoterapija, sigurna, efikasna i bez neželjenih efekata. Međutim, **in vitro** rezultati upadljivo se razlikuju od efekata **in vivo**. Sakrivanje bakterije u sloju sluzi, pokreti želuca, ali i glikokaliks bakterije i mogućnost da zauzme kokoidni oblik i da se brzo menja i evoliura, po svoj prilici su razlozi neuspeha monoterapije, koji god lek da primenimo efekat nije veći od 30%. Kad se koriste dva leka zajedno, efekat raste na 50%, ali se tek sa tri leka zajedno, ili četiri, postiže potreban procenat uspeha eradikacije od 95-100%. (4, 5, 6, 7)

Od najčešće korišćenih lekova, **Amoksisilin** deluje tako što interferira sa sintezom peptidoglikana ćelijskog zida bakterije. Primarna rezistencija na ovaj lek je retka, a sekundarna nije zapažena, mada se MIC lako povećava posle terapije. (4) Neželjeni efekti su alergija, kandidijaza, dijareja, nekada čak i pseudomembranozni kolitis. (4)

Metronidazol i Tinidazol predstavljaju antibiotike čija aktivnost ne zavisi od nivoa pH u želucu i široko su u upotrebi. Glavne mane su česta rezistencija na lek i metalni ukus u ustima i dijareja kao neželjeni efekti. (4)

Tetraciklini se veoma efikasni lekovi, aktivniji u sredini sa nižim pH. Mehanizam njihovog delovanja je sprečavanje sinteze bakterijskih polipeptidnih lanaca vezivanjem za ribozomalnu jedinicu. (4)

Klaritromicin, novi makrolidni antibiotik inhibiše sintezu proteina bakterije, blokirajući translokaciju u elongaciji polipeptidnih lanaca bakterija. Za razliku od amoksicilina i metronidazola ili tinidazola, koji deluju samo na aktivnu formu bakterije, klaritromicin deluje i na „mirne“ bakterije i na bakterije u fazi proliferacije. (4, 5)

Preparati bizmuta, koloidni bizmutsubcitrat i subsalicilat imaju baktericidno dejstvo u in vitro uslovima, vezujući se za glikoproteine mukusnog sloja i mogu da inhibišu pepsin, fosfolipaze, alkohol-dehidrogenazu. (4) Poslednjih godina se takođe čine pokušaji sintetisanja hibridnih lekova, koji bi monoterapijom objedinili više lekova, a za sada je ranitidinbismutsubcitrat jedina varijantna hibridnog leka.

Metronidazol je efikasniji prema bakterijama koje nisu u fazi deobe, dok su amoksisilin i klaritromicin efikasniji prema bakterijama koje rastu i dele se. (4)

Pored već pomenutih antibiotika, ne treba zaboraviti tetracikline kao rezervni izbor ako postoji alergija na amoksisilin, a takođe i druge makrolide, kao što je azitromicin. (4, 5)

Korišćenje blokatora protonske pumpe kao antisekretosnih lekova povećava procenat bakterija koje se dele i rastu, pa time povećava i efikasnost antibiotika kao što su amoksisilin i klaritromicin. H₂ antagonisti takođe deluju na sličan način, ali je mana u neophodnosti dugotrajnijeg davanja ovih lekova, zajedno sa antibioticima. Meta-analize su međutim, pokazale da nema značajne razlike u korišćenju blokatora protonske pumpe i H₂ antagonista. (7)

Očigledan je širok izbor lekova i neophodnost terapijskog „puzzle“ plana eradikacije infekcije.

U širokom dijapazonu terapijskih mogućnosti postavljaju se ključna pitanja:

- koje su prave indikacije za terapiju eradikacije?
- koja kombinacija lekova i koliko dugo je najefikasnija?

- kada i kako kontrolisati uspeh eradikacione terapije?

Najpre je 1994.godine Nacionalni institut za zdravlje Sjedinjenih američkih država doneo konsenzus o neophodnosti lečenja *Helicobacter pylori* infekcije u slučaju peptičkog ulkusa, kada se dokaže infekcija. (8)

Potom, 1996. godine u Maastrichtu Evropska grupa za proučavanje *Helicobacter pylori* infekcije donela je konsenzus o indikacijama i izboru lekova u lečenju *Helicobacter pylori* infekcije. (9)

Što se *indikacija* tiče, prva indikacija je naravno peptički ulkus i pozitivna *Helicobacter pylori* infekcija (aktivna bolest ili mirna faza);

- krvareći ulkus zahteva eradikaciju čim počne peroralno unošenje hrane;
- MALT limfom niskog stepena malignost takođe je bez sumnje indikacija;
- gastritis sa teškim makroskopskim i histološkim poremećajima;
- posle resekcija karcinoma želuca takođe je neophodna eradikacija.

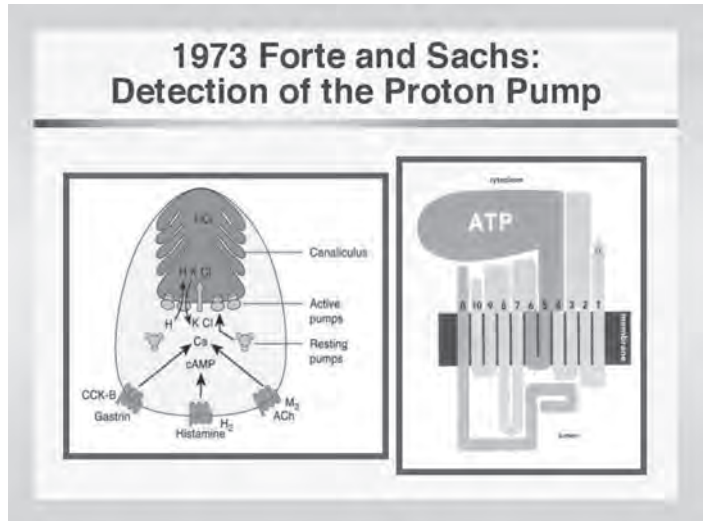
Preporučuje se eradikacija, ali ne tako odlučno i bez dvoumljenja i u grupama:

- funkcionalna dispepsija
- porodična anamneza karcinoma želuca
- dugotrajna terapija refluksne bolesti blokatorima protonske pumpe
- planiranje ili već aktuelna terapija nesteroidnim antiinflatormnim lekovima
- posle resekcije želuca zbog ulkusa
- ako pacijent želi.

Podeljena su mišljenja za grupe, a *indikacija nije sasvim jasna*:

- prevencija karcinoma želuca u odsustvu faktora rizika
- asimptomatske osobe
- vandigestivna oboljenja

Posle toga, 2000.godine sporazum Maastricht II proširio je indikacije za eradikaciju *Helicobacter pylori* infekcije. (10) Naime, sada je funkcionalna dispepsija, posle brojnih dokaza uvršćena u listu indikacija za eradikaciju. Pored toga, prvi rođaci obolelih od karcinoma želuca takođe su u grupi gde se savetuje eradikacija. Refluksni ezofagitis, pored dosada iskazanih kontraverznih stavova, takođe je indikacija za eradikaciju.



Shema protonske pumpe želuca.

Ako se drugačije, praktično pokuša sumiranje indikacija, onda je PRVA GRUPA stanja sa indikacijom za eradikaciji duodenalni i gastrični ulkus, uključujući I postojanje komplikacija (dobro dizajnirane i kontrolisane studije kao osnova za ovaj zaključak) (7);

U DRUGOJ GRUPI je MALT limfom (MALT- mucosa associated lymphoid tissue) i atrofični gastritis – dobro dizajnirane, kontrolisane studije;

TREĆA GRUPA posle operacija zbog karcinoma i pacijenti koji su prvi rođaci obolelih od karcinoma želuca – za ovo postoje indirektni dokazi, prikazi pacijenata, kao i ozbiljne studije kao dokaz;

ČETVRTA GRUPA predstavlja pacijente koji žele da budu lečeni – argument za ovu grupu je kliničko, praktično iskustvo.

Možda je za praktičan pristup dobar stav američkih gastroenterologa – ako se već testira na prisustvo *Helicobacter pylori* uinfekcije, onda nema opravdanja ne lečiti infekciju, ako se već dokaže njeno postojanje. (11, 12)

Izbor terapijskog protokola predmet je brojnih rasprava i kliničkih studija poslednjih godina. U svakom slučaju, procenat eradikacije koji zadovoljava kliničke zahteve je 80% uspeha eradikacije i više, uz dobru toleranciju i ne tako visoku cenu terapije.¹⁰

Što se izbora lekova i dužine lečenja tiče, dogovor iz Maastrichta 2000. preporučuje standardnu dozu blokatora protonske pumpe, dva puta dnevno, ili ranitidinbismutcitrat dva puta dnevno, zajedno sa:

- a. claritromicinom 2x500mg
- b. amoksicilinom 2x1000mg.

Alternativna kombinacija lekova je inhibitor protonske pumpe ili ranitidine bismutcitrat u kombinaciji sa klaritromicinom 2x250mg, zajedno sa Metronidazolom 2x500mg. Ova kombinacija je prva kombinacija izbora.

Ako postoji alergija na penicilin, onda se amoksicilin može zameniti tetraciklinom, ili metronidazolom (2x500mg) ili tinidazolom (2x500mg).

Ako ovakva kombinacija ne uspe da eradica infekciju, onda je alternativa četverostruka terapija, koja uključuje ii koloidni bismutcitrat ili bismutsalicilat, a antibiotici se menjaju. U rezervnoj kombinaciji, primenjuje se, pored tetraciklina i azitromicin.

Treći terapijski izbor treba da bude baziran individualno, posle ciljano rađene kulture.

Blokatori protonske pumpe su omeprazol 2x20mg, ili lansoprazol 2x30mg, ili pantoprazol 2x40mg. Inhibicija sekrecije HCl smanjuje količinu želudačnog soka i produžava kontakt antibiotika sa sluznicom želuca.

Dužina trajanja terapija ne mora da bude duže od 7 dana, svi lekovi zajedno.

Američke preporuke produžavaju uzimanje lekova na dve nedelje. Međutim, kontrolisane studije pokazuju da je jednonedeljna terapija u najvećoj većini dovoljna za uspešnu eradikaciju.

Ukoliko nema efekta, odnosno, ako mesec dana posle prekida terapije i dalje perzistira infekcija, može se primeniti alternativna četverostruka terapija, uz promenu antibiotika i dodavanje koloidnog bizmuta (bismutsubsalicilata ili bismutcitrata). Umesto blokatora protonske pumpe može se primeniti i ranitidinbismutcitrat. (13)

Takođe, u slučaju odsustva efekta terapijskog protokola neophodno je razmišljati o bakterijskoj rezistenciji i planirati alternativne pristupe. Azitromicin kao makrolidni antibiotik, koji je stabilan u kiseloj sredini u kombinaciji sa blokatorima protonske pumpe, metronidazolom ili amoksicilinom može da bude efikasan preko 90%. (4, 13)

Posle eradikacione terapije *Helicobacter pylori* infekcije kontrola uspeha terapije moguća je pouzdano mesec dana posle izlečenja, pod uslovom da u tom periodu pacijent bude bez antisekretornih lekova i antibiotika. Ukoliko je dijagnoza bila postavljena serološkim testovima, onda je neophodno da prođe bar 6 meseci, da bi se pratila dinamika snižavanja titra IgG antitela u krvi. Rizik od reinfekcije iznosi 1% godišnje. (14)

Evropski konsenzus važno mesto u lečenju *Helicobacter pylori* infekcije daje lekaru opšte medicine, jer za osobe mlađe od 45 godina bez alarmantnih simptoma predviđa neinvazivni metod testiranja i odmah lečenje ukoliko se potvrdi postojanje infekcije. (10) Tek posle izostanka poboljšanja simptoma, ili ako je osoba starija od 45 godina, ili ako se javljaju alarmantni simptomi predviđa se odmah obraćanje gastroenterologu i planiranje endoskopije. Obzirom na mogućnost asimptomatskih karcinoma, na preklapanje simptoma veoma ozbiljnih bolesti i neulkusne dispepsije čini se ipak ispravan strateški stav o neophodnosti endoskopije pre nego što se odlučimo za lečenje infekcije. (15)

LITERATURA

1. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, et al. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142:436-439.
2. Morris A, Nicholson G. Ingestion of *campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987;82:192-199.
3. Marshall BJ, Royce H, Annear Di, et al. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbiol Lett* 1984;25:83-88.
4. Glupczynski Y. In vitro susceptibility testing of *Helicobacter pylori* to antimicrobial agents- basis for treatment of microbiologists' obsession. *Int J Med Microbiol* 1993;280:227-238.
5. Tytgat GNJ. Treatments that impact favourably upon the eradication of *Helicobacter pylori* and ulcer recurrence (review article). *Aliment Pharmacol Ther* 1994;8:359-368.
6. Marshall BJ. Treatment strategies for *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin N Am* 1993;22:183
7. Mohamed AH. Eradication of *Helicobacter pylori*: A metaanalysis. *Gastroenterology* 1994;106:A142.
8. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 1994.
9. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *GUT* 1997;41:8- 13.
10. Malfertheiner P et al.: Current Concepts in the Management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht Consensus Report 2-2000 (unpublished data)
11. LAMBERT JR. *The role of Helicobacter pylori in nonulcer dyspepsia*. A debate- for. *Gastroenterol Clin North Am*. 1993;22:141- 51.

12. TALLEY NJ. *The role of Helicobacter pylori in nonulcer dyspepsia. A debate against.* Gastroenterol Clin North Am. 1993;22:153- 67
13. Megraud F. The most important diagnostic modalities for Helicobacter pylori, now and in the future. Eur J Gastroenterol Hepatol 1997;9(suppl 1):S13-S15
14. Adamsson I, Edlund C, Nord CE. Microbial ecology and treatment of Helicobacter pylori infection: review. J Chemother 2000;12:5-16.
15. Breslin NP, Thompson AB, Bailey RJ, et al. Gastric cancer and other endoscopic diagnoses in patients with benign dyspepsia. Gut 2000;46:93-7.

UPUTSTVO AUTORIMA

Uredništvo časopisa “Acta Clinica” moli autore da se prilikom pripreme i obrade tekstova pridržavaju sledećih uputstava.

Časopis je namenjen lekarima opšte medicine, specijalistima pojedinih medicinskih grana i stručnjacima iz drugih biomedicinskih oblasti. Časopis objavljuje stručne i naučne radove po pozivu gosta urednika za svaki tematski broj. Radovi treba da budu pripremljeni u formi preglednih radova. Gost urednik kontaktira saradnike tematske sveske tokom procesa pripreme tekstova, vrši stilsko i tehničko usklađivanje tekstova prema zahtevima u uputstvu časopisa, a zatim ih dostavlja uredništvu. Gost urednik dostavlja uredništvu časopisa i korigovane verzije radova prema zahtevima recenzentskog tima.

Radovi se dostavljaju u dva primerka, odštampani na laserskom štampaču, samo na jednoj strani bele hartije formata A4, dvostrukim proredom sa najviše 30 redova po strani i sa marginom od najmanje 3 cm. Dozvoljeni obim rukopisa koji uključuje sažetak, sve priloge i spisak literature treba da iznosi do 15 stranica. Pored štampane verzije, tekstualna verzija rada se šalje u obliku elektronske forme, na disketi od 3.5” (inča) za PC kompatibilne računare uz korišćenje Word for Windows programa za obradu teksta.

Prilozi u obliku tabela, crteža, grafikona i sl. trebalo bi da budu izrađeni u nekom od PC kompatibilnih programa, snimljeni u nekom od uobičajenih grafičkih formata i odštampani na laserskom štampaču ili nacrtani tušem na paus papiru. Svaki prilog treba da bude pripremljen na posebnom listu papira, odnosno snimljen u posebnom dokumentu na disketi koja sadrži tekstualnu verziju rada. Na poledini svakog odštampanog priloga treba ispisati broj koji će prilog nositi u radu kao i naziv rada uz koji se prilaže. Na posebnoj strani se navode naslovi i legende uz svaki prilog, otkucani dvostrukim proredom. Svaka tabela se priprema na posebnoj strani, dvostrukim proredom, uključujući i naslov kome prethodi redni broj tabele. U rukopisu treba označiti mesto na kome bi trebalo da se nalazi prilog. Uz rad se dostavljaju originali slika (fotografije, slajdovi, rentgenski, CT i MR snimci, itd). Troškove štampanja kolor slika u radu snosi sam autor teksta.

Prva strana rukopisa sadrži **Naslov** rada na srpskom jeziku koji treba biti kratak, jasan i bez skraćenica. Zatim slede puna imena i prezimena autora, bez titula ili akademskih zvanja. U sledećem redu se navode ustanove u kojima pojedini autori rade uz njihovo povezivanje sa odgovarajućim imenima autora brojevima u superskriptu. Na ovoj stranici se naznačava i kratki naslov rada do 40 karaktera. U dnu stranice se navodi “Adresa autora” uz navođenje imena i prezimena prvog autora, titule, pune poštanske adrese i eventualno e-mail adrese.

Sažetak na srpskom jeziku i **Abstract** na engleskom jeziku dužine do 250 reči predstavljaju sledeće dve strane rukopisa. U vrhu strana se navodi pun naziv rada na srpskom,

odnosno engleskom jeziku bez imena autora i naziva njihovih institucija. Na kraju ovih stranica se navodi do pet ključnih reči (Key words).

Predlaže se da sadržaj rukopisa bude podeljen odgovarajućim podnaslovima na manje celine. Ukoliko se u tekstu rada koriste skraćenicе, potrebno je da se pri prvom njihovom pominjanju u tekstu ispišu punim nazivom. Predlaže se korišćenje generičkih naziva lekova, a ukoliko je neophodno, zaštićena imena lekova u tekstu navoditi velikim slovima. Predlaže se korišćenje SI mernih jedinica ukoliko nije međunarodno drugačije prihvaćeno.

Literatura se u tekstu označava arapskim brojevima u srednjoj zagradi prema redosledu pojavljivanja. U popisu literature na kraju teksta, citirane literature podatke poređati po redosledu po kojem se prvi put pojavljuju u tekstu. Nazivi časopisa se skraćuju kao u *Index Medicus*. Koristiti Vankuverski stil citiranja (za detalje videti *N Engl J Med* 1997; 336 (4): 309-15). Ukoliko je preko šest autora, navesti prvih šest i dodati "et al".

Članci u časopisima:

Originalni rad:

Williams CL, Nishihara M, Thalabard J-C, Grosser PM, Hotchkiss J, Knobil E. Corticotropin-releasing factor (CRF) inhibits gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the rhesus monkey. *Neuroendocrinology* 1990; 52: 133-7.

Editorial:

Tomkin GH. Diabetic vascular disease and the rising star of Protein Kinase C (editorial). *Diabetologia* 2001; 44: 657-8

Volumen sa suplementom:

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988; 20 Suppl 5: 75-8.

Sveska sa suplementom:

Myers BD. Pathophysiology of proteinuria in diabetic glomerular disease. *J Hypertens* 1990; 8 (1 Suppl): 41S-46S

Sažetak u časopisu:

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* (abstract). *Clin Res* 1987; 35: 475A.

Knjige i druge monografije:

Jedan ili više autora:

Eisen HN. *Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response*. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974: 406.

Poglavlje u knjizi:

Weinstein L, Shwartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. U: Soderman WA Jr, Soderman WA, eds. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-72.

Rad u zborniku radova:

Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. U: Gammage RB, Knye SV, eds. Indoor air and human health. Proceedings of the Seventh Life Sciences Symposium: 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985: 69-78.

Disertacije i teze:

Cairns RB. Infrared spectroscopis studies of solid oxygen. Disertacija. Berkley, California: University of California, 1965.

Rukopisi koji uključuju sve priloge u papirnoj formi i elektronskoj formi na disketi, kao i originale slika, šalju se na adresu:

Uredništvo ACTA CLINICA**Klinički centar Srbije****Pasterova 2****11000 Beograd**

Rukopisi i ostali priloženi materijali se ne vraćaju autorima.

Klinički centar Srbije, Beograd

ACTA CLINICA
Volumen 2, Broj 1
April 2002.

ISSN 1451-1134

Tiraž: 1000 primeraka

Štampa: PRIZMA, Kragujevac

Štampano u Saveznoj Republici Jugoslaviji