

# *Helicobacter pylori*'nin Morfolojik, Biyokimyasal ve Kültür Özellikleri

Mine Anđ-Küçüker, Özden Özmutlu

1900'lerin başlarından itibaren insan ve hayvan midesinde spiral şekilli bakterilerin varlığı bildirilmiştir (1,2), ancak bu özel şekilli bakterilerin insan mide biyopsilerinden izole edilerek tanımlanmaları ve gastrit, duodenit, peptik ülser, duodenal ülser gibi hastalıklarla ilişkilerinin saptanabilmesi için 80'li yıllara dek beklemek gerekmiştir.

İlk kez Warren ve Marshall tarafından 1982 yılında izole edilerek tanımlanan ve önceleri *Campylobacter pyloridis* (1), daha sonra *Campylobacter pylori* adı ile *Campylobacter* cinsi içinde sınıflandırılan bu bakterinin, bazı fenotipik farklara karşın, aslında *Wolinella* cinsine daha yakın olduğu savunulmuştur (3-5). Nihayet, yaklaşık iki yıldır yapılan ince yapısal, biyokimyasal ve genetik çalışmaların sonuçlarına dayanılarak bu bakteri yeni bir cins adı ile yeniden sınıflandırılmıştır: *Helicobacter pylori* (Tablo 1) (6).

*H.pylori*, kıvrık spiral veya çomağımsı şekilli, yuvarlak uçlu Gram-negatif bir bakteridir. Bakterinin tipik kıvrımlı şekline sıklıkla mide biyopsi örneklerinde rastlanmaktadır. İn vitro koşullarda üretilmiş kültürden hazırlanan preparatlarda ise bakterinin in vivo koşullarda olduğundan daha ince, daha uzun, at nalı şeklinde olabildiği, hatta dairesel şekiller olarak gözlemlendiği bildirilmiştir (3).

Işık mikroskobu incelemeleri için mide biyopsi materyallerinden hazırlanan kalın kesitlerde, *H.pylori*'nin kalın, kıvrık tipik görünümü ile epitel hücreleri yüzeylerinde, özellikle lümenlerde ve mukus tabakası içinde yer aldığı, bulunduğu bölgelerde kümeler oluşturduğu izlenmektedir (7-10).

İnce yapısal incelemelerde, *H.pylori*, yuvarlak uçlu, 0.5-1 x 2.5-4 µm boyutlarında, kıvrık, spiral veya çomağımsı şekilli hücreler olarak izlenmektedir (Şekil 1). *H.pylori* hücrelerinin hücre duvarlarının dış yüzeyleri, düzgün olup konak hücre sitoplazma zarı ile sıkı ilişkiindedir (Şekil 2). Oysa *Campylobacter* cinsine ait bakteriler, hücre yüzeyleri düzgün

olmayan, küt sonlanan hücreler olarak tanımlanmışlardır (6,11). Mikrograflarda, *H.pylori* hücrelerinin hücre duvarlarının, *Campylobacter* cinsinden farklı olarak, sitoplazma zarı ile birbirlerine çok yakın oldukları saptanmaktadır (Şekil 3). Bakterilerin kılıflı kirpikleri, genellikle, kesitlerin farklı düzlemlerden geçmesine bağlı olarak, hücrelerin çevresinde izlenmektedir (Şekil 2). *H.pylori* bakterileri, kılıflı kirpikleri ile hareket yeteneğine sahiptirler. *H.pylori* hücreleri 10 cp (centipoise)'de 1 cp'de olduklarından daha hızlı ve 200 cp'de hâlâ hareketli olan bakterilerdir, oysa örneğin *E. coli* 20 cp'de hareket yeteneğini yitirmektedir. Visköz ortamlarda hareket yeteneği, *H.pylori*'nin midedeki ekolojik ortamına uyum sağlayarak yerleşmesini olanaklı kılan bir özellik olarak patojenik faktörleri arasında sayılmaktadır (10,12).

Oldukça homojen görünümü bakteri sitoplazmasında, ribozomlar, nükleer fibrilli materyel ve bol miktarda elektronca yoğun inklüzyon granülleri bulunmaktadır (Şekil 8,10). Bazı mikrograflarda, bakteri hücrelerinin sitoplazmasında elektronca az yoğun bir bölgenin ortasında elektronca en yoğun bir oluşum izlenmektedir (Şekil 4). Bu oluşumun, büyük bir olasılıkla bir metalloprotein kompleksi olabileceği düşünülmektedir (6). Hücre duvarını çevreleyen glikokaliks, bakterinin konak epitel hücrelerine yapıştığı bölgelerde, konak epitel hücreleri glikokaliksleri ile birbirlerine difüze olmuş biçimde görülmektedir (6,11) (Şekil 5,6). Bakteri hücrelerinin epitel hücrelerine yapışma yerlerinde, konak hücre membranında "pedestal oluşum" izlenmektedir (Şekil 4). "Yapışma ayağı" adı da verilebilecek bu oluşum, konak epitel hücreleri zarlarında oluşan morfolojik bir değişimdir (6,11). Mukus salgılayan bu epitel hücrelerinde, bakterinin yapışma-ya bağlı olarak oluşan tahribata örnek olarak mikrovilluslerde bozulma (Şekil 6,7) ve kolonizasyon görülen bölgelerde, mukus granüllerinin içeriklerinde azalmalar saptanmaktadır.

Mukus granüllerinin içeriklerindeki azalma, bu granüllerde elektronca az yoğun bölgeler olarak izlenmektedir (Şekil 2). Mukus granüllerinin içeriklerinde azalma olgusu *H.pylori* hücrelerinde varlığı saptanan proteaz etkinliğine bağlanarak, konak hücrede müsinogenez olmaması nedeniyle, bu hücrelerde nekroz ve mikroerozyonların ortaya çıktığı düşünülmektedir (6,12).

Bazı hücrelerarası bağlantı bölgelerinde, bakteri hücrelerinin, bu bölgelerin aşağılarına doğru penetre olarak, lateral hücre membranı boyunca hücrelerarası alan içine girdikleri saptanmaktadır (3,8). Anderson ve Holck yaptıkları bir çalışmada, midede yerleşen bu bakterilerin bir kısmının lamina propria'ya da penetre olabildiklerini göstermişlerdir (13). *H.pylori*, midede epitel hücreleri yüzeyleri ile sıkı ilişkide olan,

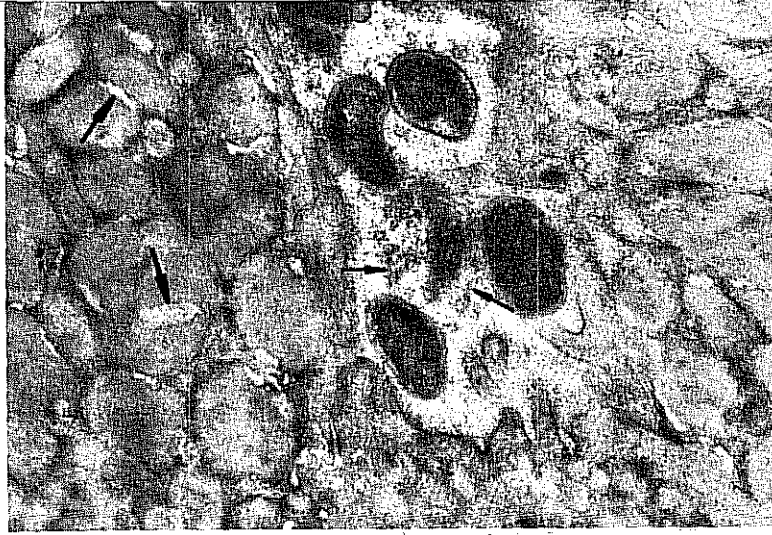
ayrıca mukus tabakasını ve hücrelerarası bağlantı bölgelerini özellikle yeğleyen, bu ortamlara yüksek düzeyde uyum sağlamış bir bakteridir (3,8,12). Bu bakterinin, midenin antrum

Tablo 1. *H.pylori*, *C.jejuni*, *H.mustelae* ve *W.succinogenes*'in Bazı Ayırt Edici Özellikleri

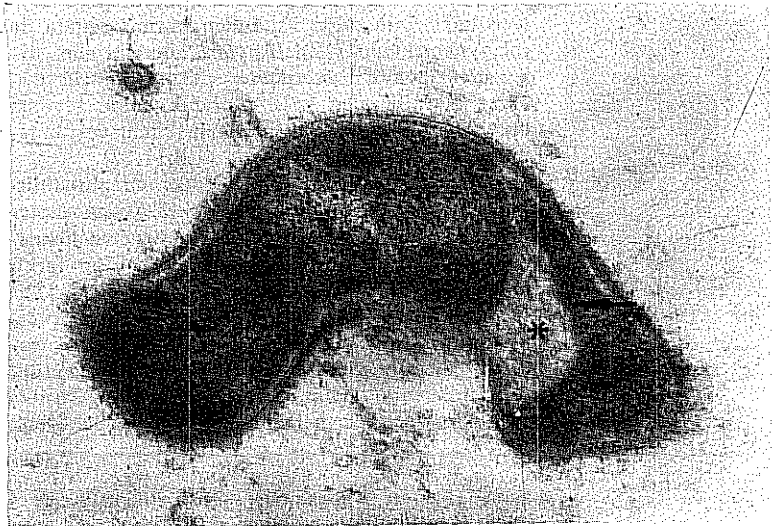
	<i>C.jejuni</i>	<i>H.pylori</i>	<i>H.mustelae</i>	<i>W.succinogenes</i>
Oksidaz	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	-
Üreaz	-	+	+	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	Zayıf
Nitrat redüksiyonu	+	-	+	+
Hipurat hidrolizi	+	-	-	-
CO <sub>2</sub>	+	+	-	-
Anacrop	+	-	+	+



Şekil 1. Epitel hücreleri yakınında yerleşmiş kıvrık, spiral veya çomaklımsı şekilli bakteriyel hücreleri, mukus hücreleri içinde invazif bakteriler (→). 6000x, 18 000x.



Şekil 2. Konak hücre zarı ile ilişkide olan bakteriyel hücreleri, bakteriyel kırpıkları (→) ve içerikleri azalmış mukus granülleri (→). 28 000x.



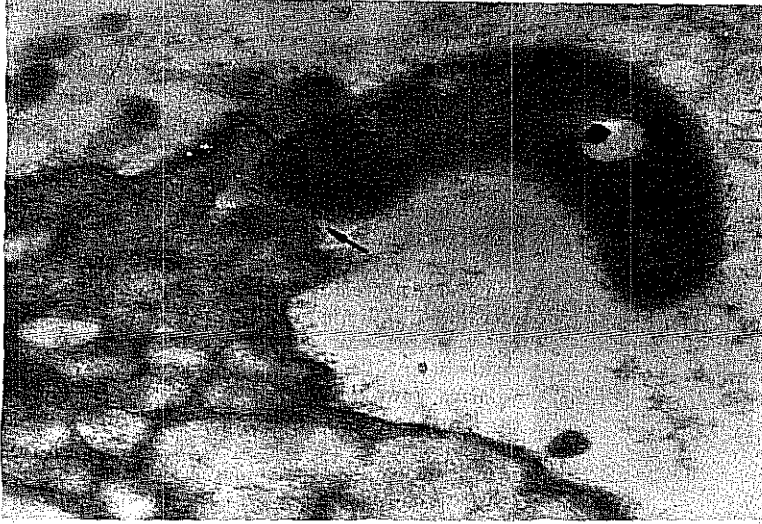
bölgesini özellikle seçmesinin nedeni büyük bir olasılıkla, bu bölgenin, diğer bölgelere oranla, daha kalın olan mukus tabakasıdır. Mukusun, bakteriyi midenin asid ortamından koruduğu düşünülmektedir (8,12). *H. pylori* sıklıkla mukus salgılayan epitel hücreleri ile çevrili lümenleri de kolonize etme eğilimindedir (3,8). Tüm bu yerleşim bölgelerinde, bakteriler kümeler halinde bulunmaktadırlar. Yapılan çalışmalarla, *H. pylori*'nin yalnızca gastrik tip epitele yerleştiği belirlenmiştir. *H. pylori*'nin ancak mikroaerofil koşullarda üreyebilmesi ve bu atmosfer koşullarının yalnız gastrik tip epitelde var olması bu seçiciliğin belki de en temel nedenidir (6,12). *H. pylori*'nin salt gastrik tip epitele yerleştiğinin bir diğer kanıtı da, bu bakterinin gastrit dışında, gastrik metaplazinin görüldüğü duodenit, duodenal ülser, özofajiten de izole edilebilmiş olmasıdır (4,9,12,13).

Bu bakterinin, hücre içi invazyonuna ait bulgular henüz tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar, invazyona ait fazla ve kesin kanıtlar bulunmadığını öne sürerlerken (3,6,8,14), örneğin Dooley ve arkadaşları *H. pylori*'nin invazif bir bakteri olduğunu savunmuşlardır (4). Tarafımızdan yapılan bir çalışmada ise, bazı mikrograflarda, mukus hücrelerinde mukus granülleri arasında *H. pylori* hücrelerine benzer yapılar görülmüştür (Şekil 1,8). Bu bulgu, bakterinin dokuya penetrasyon yeteneği ile bağdaştırıldığında, *H. pylori*'nin invazif bir bakteri olabileceği görüşüne katılmaktayız.

Biyokimyasal çalışmalarla, *H. pylori* bakterisinde en önemli hücresel yağ asidlerinin tetradekanoik asid ile az miktarda heksadekanoik asid ve 19-karbon-siklopropan yağ asidi olduğu belirlenmiştir (6). *H. pylori*, 3-hidroksioktadekanoik aside sahip tek bakteridir. Yağ asidleri farklılıklarına göre, *Campylobacter jejuni*, *H. mustelae*, *H. pylori* ve *Helicobacter benzeri* organizma (HLO)'ların farklı bakteriler oldukları kesindir (6). Kemotaksinomide solunum sisteminin kinonları, bilindiği gibi, önemli markırlardır. *H. pylori*'de metillenmiş menakinon-6'nın bulunmaması, oysa *Campylobacter* türlerinde bulunması, *H. pylori*'nin *Campylobacter*'den farklı bir cinse mensup olduğunu vurgulamaktadır (6).

*H. pylori*'nin kimyasal yapı olarak diğer *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi olan bakterilerden ve *C. jejuni*'den farklı olan lipid A'sının, *C. jejuni*'nin lipid A'sı ile olan antijenik yakınlığı, *C. jejuni* ile *Salmonella typhimurium* arasındaki yakınlıktan çok daha azdır (6) *H. pylori*'nin hem türe özgü protein ve lipopolisakarid (LPS) grup antijenleri; hem de suşa özgü protein ve LPS yan zincir antijenleri vardır (6). Bilinen diğer Gram-negatif bak-

Şekil 3. *H. pylori*'nin düzgün yüzeyli hücre duvarı, homojen sitoplazma içinde görülen ribozomlar (→), inklüzyon granülleri (→) ve nukleer fibrilli materyel (\*). 90 000x.



Şekil 4. Konak hücre zarı yüzeyinde yerleşen *H. pylori* ve neden olduğu "pedestal oluşum" (→), hücre sitoplazmasında elektronca az yoğun alan içinde görülen elektronca çok yoğun oluşum. 48 000x.



Şekil 5. Konak hücre ve bakteri hücresi glikokalikslerinin birbirlerine difüze olmaları (\*), inklüzyon granülleri (→) ve ribozomlar (→). 90 000x.



Şekil 6. Bakteri ve konak hücrelerinin glikokaliksleri (→), mikrovilluslarda bozulma (→). 40 000x.

terilerin LPS'leri endotoksin yapısında olmaları temelinden yola çıkılarak, *H. pylori* tarafından oluşturulan gastroduodenal tahribatın da, bu bakterinin LPS'sine karşı konak organizmanın inflamatuvar yanıtının etkisine ve/veya aktive olmuş mononükleer hücrelerce salgılanan mediyatörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir (15).

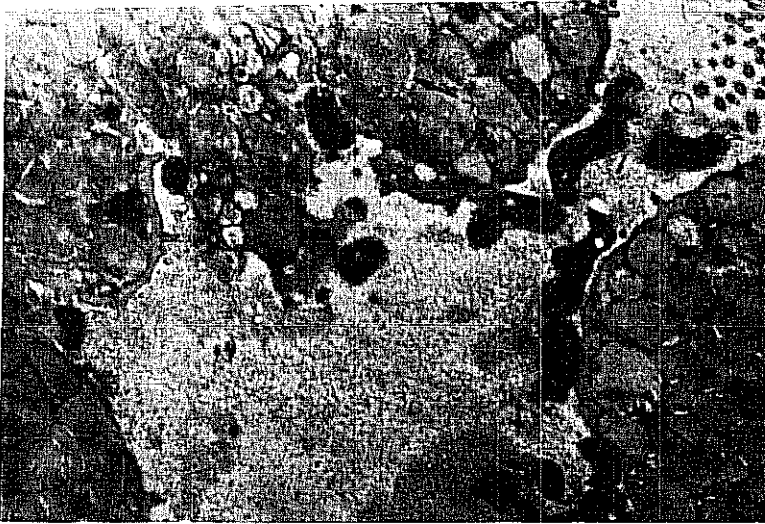
Patojenite faktörlerinden bir diğeri ise *H. pylori* hücrelerinin salgıladığı CHO (chinese hamster ovary K 1 cells) hücre kültürlerinde sitotoksik etki gösteren ve fareler için letal olduğu saptanan protein yapısında bir sitotoksindir (16).

*H. pylori*'de gerek hücreye bağlı gerekse çözülür hemagglütinin varlığı bildirilmiş olup hücreye bağlı hemagglütininin pronaz ve papaine duyarlı, pepsin ve tripsine dirençli olduğu saptanmıştır (6).

*H. pylori* hücrelerinde çeşitli enzimatik etkinlikler saptanmıştır. Bu bakterinin, katalaz ve oksidaz etkinliği; bulunduğu ekolojik ortamda, yani mide epitel dokusu ve onu çevreleyen mukus tabakasında, mukusu parçalayarak bakterinin yerleşimini olanaklı kılan proteaz etkinliği; lipolitik etkinliği ve fosfolipaz A etkinliğinin yanı sıra en ayırt edici etkinliği güçlü üreaz etkinliğidir. Yapılan pasajlarla, bakterinin üreaz sentezleme yeteneği yok olabilmektedir. *H. pylori*'de pH değeri birbirinden farklı iki ayrı üreaz enzimi vardır. Doku kültürü ile yapılan çalışmaların sonuçları, kültür ortamında yüksek konsantrasyonda üre bulunduğunda, *H. pylori*'nin doku kültürü hücrelerinde sitopatik etki gösterdiğini ve üre konsantrasyonu ile sitopatik etkinin derecesinin paralellliğini göstermektedir. Bu etki, büyük bir olasılıkla, üreaz enziminin üreyi parçalaması sonucu oluşan amonyak tarafından oluşturulmaktadır (6). Üreaz, patojenite faktörü olarak gösterdiği etkisinin yanı sıra, parçaladığı üreden amonyanın ortaya çıkmasına neden olmakla, mide ortamının alkalileşmesinde ve böylece bakterinin mide asidinden korunmasında da rol oynamaktadır (12). *H. pylori* hücrelerinde, diğer üreaz-pozitif bakterilerden çok daha güçlü olan üreaz etkinliğinden yola çıkılarak, mide biyopsi örneklerinde bakterinin hızlı tanısı için çeşitli tanı yöntemleri geliştirilmiştir (1,8,11,17).

Alkalen fosfataz, asid fosfataz ve glutamilt-ranspeptidaz etkinlikleri de pozitif olarak saptanan *H. pylori*'nin, esteraz, fosfohidrolaz ve lösinarilamidaz enzimlerinin varlığına göre, dört farklı biyotipi olabildiği saptanmıştır (Tablo 2) (6,11).

Yeni izole edilen *H. pylori* hücrelerinde plazmidlerin varlığı bildirilmiştir. Bu plazmidler, yapılan pasajlarla kaybolabilmektedir. *H. pylori* plazmidlerinin çoğunun 18-22 kbp boyutlarında oldukları ve suşların çoğunun iki veya daha çok



Şekil 7. Kıvrık, spiral veya çomâğmsı bakteri hücreleri ve içerikleri azalan mukus granülleri (→) 15 000x.



Şekil 8. Eptel hücreleri içinde invazif bakteriler (→). 15 000x.

sayıda plazmid içerdikleri gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda, antibiyotiklere dirençli olan veya üreaz etkinliği olmayan suşların plazmid profillerinin diğer suşlardan farklı olmadığı saptanmıştır (6). *H.pylori* suşları, restriksiyon endonükleaz analizlerine göre, alt-tür düzeyinde genetik varyasyonlar göstermektedir (6).

Özellikle, tanıda önemli kriterler olarak rol oynayan bazı

Tablo 2. *H.pylori*'nin Farklı Biotipleri

	Esteraz	Fosfolhidrolaz	Lösinarilamidaz
Biyotip 1	+	+	+
Biyotip 2	-	+	+
Biyotip 3	-	-	+
Biyotip 4	-	-	-

Tablo 3. *H.pylori*'nin Temel Özellikleri

- Spiral, kıvrık, 2.5-3.5x0.5-1 µm, Gram-negatif çomak
- 1-6 tane bipolar konumlu, kılıflı kirpik
- Düzgün hücre yüzeyi
- Yuvarlak sonlanan hücreler
- Mikroaerofil koşullarda üreme
- Optimum üreme sıcaklığı 37°C, süresi 5-7 gün
- Katalaz-pozitif
- Oksidaz-pozitif
- Üreaz çok güçlü pozitif (Değişik biyopsi üreaz testleri ile mide biyopsi örneklerinde hızlı tanı)
- H<sub>2</sub>S-pozitif
- Karbonhidratları fermente etmez
- Nalidiksik aside dirençli

özellikleri Tablo 3'te gösterilen *H.pylori* bakterileri üreyebilmek için koyun kanı (% 5-7), at kanı (% 5-7), at serumu (% 20), egg yolk, kazein, karkoal, nişasta, IsoVitalax gibi bazı maddelere gereksinim duymaktadır. Genellikle % 5-7 koyun veya at kanı içeren, beyin-kalp infüzyon agarı, *Brucella* agarı gibi zengin besiyerlerinde ürer. Üreme için optimum pH 6.6-8.4 olup *H.pylori*, *C.jejuni*'nin tersine, ortalama 4 mM üre bulunduğu pH 1.5-2'de de üreyebilmektedir. *H.pylori* için optimum üreme sıcaklığı 33-40°C olup 25°C ve 42°C'de üreme görülmemektedir (6,12). *H.pylori* üreyebilmek için % 5 O<sub>2</sub>, % 10 CO<sub>2</sub>, % 10 H<sub>2</sub> ve % 75 N<sub>2</sub> içeren mikroaerofil atmosfere gereksinim duymaktadır. İlk izolasyonda bakterinin üremesi için 5-7 günlük bir süreye gereksinim vardır. Bu süre sonunda, besiyeri yüzeyinde 1-2 mm çapında, transparan, düzgün yüzeyli ve düzgün kenarlı koloniler oluşur (1,6,11).

#### Kaynaklar

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 16: 1312.
2. Marshall BJ. Campylobacter pyloridis and gastritis. *J Infect Dis* 1986; 153: 650.
3. Buck GE. Campylobacter pylori and gastroduodenal disease. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 1.
4. Dooley CP, Cohen H. The clinical significance of Campylobacter pylori. *Ann Intern Med* 1988; 108: 70.
5. Fox JG, Taylor NS, Edmonds P, Brenner DJ. Campylobacter pylori subsp. mustelae nov. isolated from the gastric mucosa of ferrets (*Mustela putorius furo*) and an emended description of Campylobacter pylori. *Int J Syst Bacteriol* 1988; 38: 367.
6. Goodwin CS, Armstrong JA. Microbiological aspects of Helicobacter pylori (Campylobacter pylori). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 1.
7. Akyüz A, Anğ-Küçük M, Taviloğlu K, Buğra D, Sökücü N, Bü-

- yükuncu Y, Çokerler Ö, Ang Ö. Duodenit ve peptik ülser atkeni olarak *Campylobacter pylori*. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* (Baskıda).
8. Barthel JS, Westblom TU, Havey AD, Gozalez F, Everett ED. Gastritis and *Campylobacter pylori* in healthy asymptomatic volunteers. *Arch Intern Med* 1988; 148: 1149.
  9. Graham DY. *Campylobacter pylori* and peptic ulcer diseases. *Gastroenterology* 1989; 96: 615.
  10. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pylori*-dis and gastritis: Association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153: 4.
  11. Rauws EAJ, Fytgat GNJ. *Campylobacter pylori*. Amsterdam: W.C. den Duden BV, 1989.
  12. Lee A, Hazell SL. *Campylobacter pylori* in health and disease, an ecological prespective. *Microb Ecol Health Dis* 1988; 1: 1.
  13. Andersen LP, Holck S. Possible evidence of invasiveness of *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 2.
  14. Aase S, Elgjo K, Fausa O, Bjorneklett A, Nedenskov-Sorensen P, Bukholm G. Bacteria of the gastric antrum and their relation to chronic gastritis. *APMIS* 1988; 9: 273.
  15. Fumarola D, Miragliotta G. Possible pathogenic mechanism of *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7: 581.
  16. Hupertz V, Czinn S. Demonstration of a cytotoxin from *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7: 578.
  17. Westblom TU, Madan E, Kempf J, Subile MA. Evaluation of rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1393.