

Duodenul ülserli hastalarda MHC klas II reseptör ekspresyonu*

MHC class II receptor expression in patients with duodenal ulcer

Zeygam SÜLEYMANOV¹, S. MUSAYEV¹, Sedef ÖZDAL KURAN³, Ali ÖZDEN², Burhan ŞAHİN³

Azerbaycan Tıp Üniversitesi, Bakü¹, Ankara

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ABD², Ankara

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği³, Ankara

Giriş ve amaç: MHC klas II antijen reseptörlerini eksprese eden immün hücreler bakterilerden korunma mekanizmaları içerisinde öncülüğe sahiptirler. Çünkü mikroorganizmalar ile ilk olarak bu hücreler temasa girer. Çalışmamızın amacı, *Helicobacter pylori* (+) kronik antral gastriti ve duodenal ülserli olan hastaların periferik venöz kanında MHC klas II antijen reseptörlerini eksprese eden hücrelerin miktarını incelemektir. **Gereç ve yöntem:** Toplam 124 olgu (ilk kez saptanan ve hiç bir tedavi görmeyen, *Helicobacter pylori* +, 47 küçük ölçülü (<6mm) duodenum ülseri, 56 orta ölçülü (6-12mm) duodenum ülseri olan hasta ve 21 sağlıklı kişi) çalışmaya alınmıştır. Periferik venöz kanda CD14, CD45, CD14/45, HLA-DR ve CD3/HLA-DR DAKO Dual Color Reagent tatbik edilerek araştırıldı. **Bulgular:** Küçük ve orta ölçülü duodenum ülseri hasta gruplarında CD14 işaretli hücrelerin sayısı kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu. Bu fark küçük çaplı ülser grubunda orta çaplı ülser grubundan daha belirgin idi. CD45 hücrelerin sayısında her üç grupta da benzerlik görülürken, CD14/45 işaretli immün hücrelerin miktarı da hasta gruplarında azalmış olarak saptandı. Böyle bir düşüş orta çaplı ülser grubunda istatistiksel olarak anlamsız küçük çaplı ülser grubunda ise anlamlı bulundu ($p < 0.05$). HLA-DR işaretli hücrelerin sayısı her iki hasta grubunda da CD3/HLA-DR ise orta çaplı ülser grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu ($p < 0.05$). **Sonuç:** CD14 hücrelerinin sayısının azalmış olması organizmada *Helicobacter pylori* infeksiyonunun gelişimine ortam yaratan sebepler arasında yer almış olabilir. Hücresel defansın böyle bir yetmezliği adı geçen hastalıkta organizmanın HLA-DR ve CD3/HLA-DR markerli hücrelerin sayısını artırması ile kompanse edilebilir.

Anahtar sözcükler: *Helicobacter pylori*, Duodenal ülser, MHC klas II antijen reseptörü

Background and aims: Immune cells expressing MHC class II antigen receptors are the leading aggressive mechanisms against bacteria. These are the first cells in the organism to receive the microorganisms. The aim of this study was to determine the number of immune cells expressing MHC class II antigens in peripheral venous blood of patients with duodenal ulcers and *Helicobacter pylori*. **Materials and methods:** One hundred and twenty-three patients with *H. pylori* without any prior treatment [47 with small-sized duodenal ulcers (<6 mm); 54 with medium-sized (6-12 mm) and 21 healthy controls] were included in the study. The peripheral venous blood of patients was evaluated for CD 14, CD 45, CD 14/45, HLA-DR, and CD/HLA-DR by DAKO dual color reagent. **Results:** The number of CD 14 expressing cells in the small- and medium-sized duodenal ulcers was found to be significantly fewer than in the controls. The difference was more significant in small-sized duodenal ulcers. The decrease in CD 14/45 expression in both patient groups and in CD3/HLA-DR expression in the medium-sized ulcer group were significantly higher than in the controls. **Conclusion:** Decreasing numbers of CD 14 expressing cells can be one of the reasons for *H. pylori* infection. Such a decrease in cellular defense can be compensated by increasing the HLA-DR and CD3/HLA-DR expression.

Key words: *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, MHC class II antigen receptor

GİRİŞ VE AMAÇ

İmmün sistemin *Helicobacter pylori* (*Hp*) infeksiyonunu ortadan kaldırmaktaki etkisizliği ve reinfeksiyona karşı koruyucu olamaması (1) bu yöndeki çalışmaların güncelliğini artırmaktadır. Pozitif ve negatif kişilerde IgM düzeyindeki benzerlik (2,3), anti-CAP (sitotoksin associated protein) IgM yokluğu bu hastalığın akut iltihap olmadığını göstermektedir ve kronik tabiatı ile ilişkilidir (4). Çünkü IgM molekülü birinci olarak antijen stimülasyonuna cevap olarak sentez edilir (5). Bununla birlikte *Hp* ile infekte kişilerin gastrik mukoza epitel hücre yüzeyinde MHC klas II anti-

jenlerinin ekspresyonunun artmış olduğu ispatlanmıştır (6). Bu araştırmanın amacı bakterilerle mücadele fonksiyonunu üstlenmiş olan immün hücrelerde MHC klas II antijen reseptörlerinin ekspresyonunu araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji kliniğinde Ekim 1994-Şubat 1997 tarihleri arasında başvuran ve endoskopik muayenede ilk kez saptanan ve hiçbir tedavi görmeyen *Hp* pozitif,

*Çalışma TÜBİTAK, Türk Gastroenteroloji Derneği ve Türk Gastroenteroloji Vakfı tarafından desteklenmiştir

kronik antral gastriti ve duodenal ülseri olan 103 hasta ve 21 sağlıklı kişi çalışmaya alındı. *Hp*'nin pozitifliği üreaz testi ile ve histolojik olarak, kronik antral gastritis ve duodenum ülseri ise hem endoskopik hem de histolojik olarak doğrulanmıştı. Hastalar seçilirken onlarda immün sistemi etkileyebilecek herhangi bir patolojik durumun olmamasına özen gösterilmiştir. Ülser çapı 6mm'den az olan vakalar küçük ülser (KÜ), 6-12 mm arasında olanlar ise orta ülser (OÜ) grubuna dahil edilmiştir. DAKO Dual Color Reagent (Denmark) tatbik edilerek periferik venöz kanda MHC II klas antijen reseptörlerini eksprese eden CD14, CD45, CD14/45, HLA-DR, ve CD3/HLA-DR hücrelerin mutlak sayısı ($n \times 10^9/L$) araştırılmıştır. İstatistiksel işlemler de Microsoft Exel 2000 programında Student's t testi kullanılmıştır. Değerler ortalamaya \pm standart sapma olarak verilmiştir ve $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Kontrol ve hasta gruplarında yaş ve cinsiyet bakımından fark bulunamamıştır. Çalışmaya 71 erkek ve 32 kadın hasta alınmıştır. Kontrol grubunda 9 erkek-12 kadın, KÜ grubunda 30 erkek -17 kadın, OÜ grubunda ise 41 erkek ve 15 kadın vardı (Tablo 1). Toplam da erkek/kadın oranı 2.2:1 olduğu halde KÜ grubunda bu rakam 1.76:1, OÜ grubunda ise 2.73:1 olarak bulunmuştur. Periferik venöz kanda CD14 markerli hücrelerin sayısında her iki hasta grubunda da kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş izlendi. KÜ grubunda bu düşüş ($p < 0.005$) OÜ grubuna göre daha belirgin idi ($p < 0.05$). Hasta gruplarında CD45 düzeyindeki artış anlamlı olmasa da, CD14/45 markerli hücrelerin sayısı da KÜ grubunda CD14 verisinde olduğu gibi, kontrole göre azalmış olarak bulundu ($p < 0.05$). OÜ grubundaki aynı veride izlenen azalma ise anlamlı olmadı ($p > 0.05$).

HLA-DR reseptörleri taşıyan hücrelerin sayısı ise kontrole göre KÜ grubunda 1.9 defa, OÜ grubunda ise 2.5 defa artmış olarak bulundu. Her iki

halde de fark anlamlı idi (KÜ – $p < 0.025$; OÜ – $p < 0.005$). CD3/HLA-DR işaretli immün hücrelerin sayısı kontrol grubu ile KÜ grubunda çok benzer olduğu halde, OÜ grubunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında 2.9 kat bir artış izlendi ($p < 0.005$) (Tablo 2).

Tablo 2. Periferik venöz kanda MHC klas II antijen reseptör ekspresyonu ($n \times 10^9/L$)

Parametre	Gruplar		
	KG	KÜ	OÜ
CD14	0.129 \pm 0.037	0.021 \pm 0.008*	0.048 \pm 0.025*
CD45	1.681 \pm 0.632	2.502 \pm 0.269	2.575 \pm 0.686
CD14/45	0.091 \pm 0.019	0.044 \pm 0.017*	0.056 \pm 0.021
HLA-DR	0.582 \pm 0.134	1.135 \pm 0.241**	1.495 \pm 0.247**
CD3/HLA-DR	0.393 \pm 0.135	0.388 \pm 0.148	1.162 \pm 0.301**

*($p < 0.05$), **($p < 0.05$)

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Hp* pozitif, antral gastriti ve duodenal ülseri olan hastaların periferik venöz kanında kontrollere göre CD14 markerli hücrelerin sayısı düşük bulundu. CD14 reseptörlerinin B lenfositlere ve bir sıra fagositlere – nötrofil/monosit/makrofağlara ait olduğu ve lipopolisakarid birleştirici bir fonksiyon taşıdığı bilinmektedir (5). Ayrıca Gram negatif olan *Hp* bakterilerinin antijen strüktürlerinin bir çoğunun lipopolisakarid yapılı endotoksin olduğu da gösterilmiştir (7). Bu lipopolisakaridler mukozada hafif sIgA-immün yanıtına sebep olurken, kendilerini kan grubu antijenlerinden Lewisx ve Lewisy'e benzetebildiklerinden diğer yandan da zayıf IgG- yanıtına neden olurlar. Bunlarla birlikte mukozada bu antijenler bazal membranın laminin'i ile reaksiyona girek epitel hücrelerinin buradan kolaylıkla kopması için ortam yaratırlar (7, 8). Birçok araştırmacıya göre antijenleri lipopolisakarid yapılı olan bakterilere karşı verilen immün yanıt zayıflığı ile dikkat çekmektedir (9, 10). Bu bakımdan *Hp*'ye verilen immün yanıt da doğal olarak zayıftır. Bununla birlikte bu zayıflığın immün sistemin özel bir tavrına veya lipopolisakarid yapılı antijenlerin tanınmasında önemli rolü olan CD14 reseptörlerinin eksikliğine mi bağlı olduğu sorusu açık kalmaktadır. Bizim çalışmamız cevabın ikinci kısmından yanadır. Çünkü CD14 işaretli hücreler "immün suskunluğun" aradan kaldırılmasında önemli rol oynarlar (10).

Elde ettiğimiz diğer bir bulguya göre tüm lökositlere ait olan, genelde ise lenfositlerin yüzeyinde

Tablo 1. Kontrol ve hasta gruplarının temel özellikleri

Parametre	Gruplar		
	KG n=21	KÜ n=47	OÜ n=56
Cins: E/K	9/12	30/17	41/15
Ortalama yaş (yıl)	39.9 \pm 7.0	39.6 \pm 9.8	38.2 \pm 6.9
Ülser ölçüsü	yok	< 6mm	6-12mm

KG: Kontrol grubu, KÜ: Küçük çaplı ülser grubu, OÜ: Orta çaplı ülser grubu

granüositlere göre daha fazla görülen CD45 işaretli hücrelerin (11) sayısı hasta gruplarının her ikisinde de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olarak bulunsa da aradaki fark anlamlı olmamıştır. Yüzeyinde hem CD14, hem de CD45 reseptör glikoproteinlerini bulunduran CD14/45 işaretli hücrelerin sayısı her iki hasta gruplarında da azalmış olarak saptandı. Bu azalma KÜ grubunda istatistiksel olarak anlamlı, OÜ'de ise anlamsız bulundu. Burada CD14 ve ya CD14/45 işaretli hücrelerin sayısının KÜ grubunda daha belirgin bir şekilde azalmış olması dikkati çekmektedir. Ülserin ölçüsü daha büyük olan OÜ grubunda adı geçen hücrelerin sayısının KÜ grubuna göre artmasının nedenlerini izah etmek çok zordur.

Hp ile infekte kişilerin gastrik mukoza epitel hücre yüzeyinde MHC klas II antijen reseptörleri (HLA-DR) kuvvetle eksprese olur (12). Böyle bir durumu *Hp*'ye verilen immün yanıtın şiddeti ile ilişkilendirenler de vardır (13) ve bu T lenfositlerin yaptığı gama interferonun etkisine bağlıdır. Ancak gastrointestinal epitelde HLA-DR ekspresyonu daha erken dönemlerde hayata geçmektedir ki, MacDonald ve arkadaşları 17 haftalık embriyonun (fetusun) ince bağırsak villus epitel yüzeyinde HLA-DR(+) olduğunu ispatlamışlardır (14). Demek ki, mukozal epitelde HLA-DR ekspresyonu sadece lokal immün yanıtın göstergisi olmayıp, organizmanın daha geniş fonksiyonlarını yaparlar. Çünkü, MHC klas II antijenlerinin reseptörleri olan HLA-DR hücreler genelde fagositoz kabiliyetlidir ve vücutta dış faktörlerle

en sık teması bulunan organlarda – gastrointestinal ve solunum sistemlerinde yer almaktadırlar (9). Bu bakımdan çalışmaya aldığımız hastaların periferik venöz kanında HLA-DR pozitif hücrelerin sayılarının ülser ölçüsüne bağlı olması ve kontrollere göre anlamlı ölçüde artış göstermesi doğaldır. Biz OÜ grubunda olan hastalarda kontrollere göre daha belirgin bir artışın olduğunu izledik ($p < 0.005$). KÜ grubunda bu farklılık OÜ'deki gibi değildi ($p < 0.025$). *Hp* pozitif olan her iki hasta grubunda HLA-DR ekspresyonundaki artışla ülserin ölçüleri arasında bir ilişkinin olması bu yükselişi yalnız *Hp*'ye değil, aynı zamanda mukozal hasarına karşı verilmiş olan yanıt gibi değerlendirmek gerekir. Diğer yandan bu çalışmada OÜ grubunda fonksiyonel açıdan aktifleşmiş lenfositlerin göstergesi olan CD3/HLA-DR parametresinin de ilaveten hem kontrole, hem de KÜ grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunması yukarıda söylediklerimizi bir daha tasdik etmektedir.

Sonuç olarak, organizmada CD14 işaretli hücrelerin sayısının normalden az olması *Hp* infeksiyonunun gelişmesi için ortam yaratan nedenler arasında yer alması mümkündür. Hücrel immün defansın böyle bir yetmezliğini, organizma HLA-DR ve CD3/HLA-DR reseptörlerini eksprese eden hücrelerin sayısını artırmakla kompanse etmiş olabilir. Ayrıca, gastroduodenal mukozada ülseratif hasarla bu hücrelerin sayısı arasında da ilişkisi vardır.

KAYNAKLAR

1. Stacey A.R., Hawtin P.R., Newell D.C. Local immune responses to *Helicobacter pylori* infections. In: *Hp, Gastritis and Peptic ulcer*. P.Malfertheiner, H.Ditschuneit. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1990; pp 162-166.
2. Perez-Perez G.I., Dworkin B.M., Chodos J.E., et al. Campylobacter pylori antibodies in humans. *Ann Intern Med*, 1988; 109, p. 11-17.
3. Andersen L.P., Raskov H., Elsborg L., et al. Prevalance of antibodies against heatstable antigens from *Helicobacter pylori* in patients with dyspeptic symptoms and normal persons. *APMIS* 1992; 100, p 779-789.
4. Özden A. İşte *Helicobacter pylori*, gastrit, peptik ülser. 1995; TGD yayını, 167 s.
5. Playfair J.H.L. *Immunology at a Glance*. Sixth Edition. Blackwell Science. 1998; 95 p.
6. Engstrand L., Scheynius A., Pahlson C. et al. Association of *Campylobacter pylori* with induced expression of class II transplantation antigens on gastric epithelial cells. *Infect Immunol*. 1989; 57; p 827-832.
7. Moran A.P. The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1996; 10; S 1; p 57-64.
8. Ernst P.B., Jin Y., Reyes V.E., et al. The role of the lokale immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation. *Scand. J Gastroenterol*. 1994; 29; S 205; p 22-28.
9. Roitt Ivan M. *Essential Immunology*. Blackwell Scientific Publication. 1988; 327 p.
10. Paul William E. *Funfamental Immunology*. Raven Press Books. 1989; 360 p.
11. Shah V.O., Civin C.I., Loken M.R. Flow cytometric analysis of human bone marrow. IV. Differential quantitative expression of T-200 common leukocyte antigen during normal hemopoiesis. *J Immunol* 1988; 140; p 1861-1867.
12. Engstrand L., Scheynius A., Pahlson C., et al. Association of *Campylobacter pylori* with induced expression of class II transplantation antigens on gastric epithelial cells. *Infect Immunol*. 1989; 57; p 827-832.
13. Kononov A.V. Mestny immunny otvet na infeksiyu *Helicobacter pylori*. Materialy 7-y sessii Rossiyskoy gruppi po izuçeniyu *Hp*. Omsk. 1997; s 14-19 (Rusca – Rus *Hp* grubunun hesabati).
14. MacDonald T.T., Weinel A., Spencer J. HLA-DR expression in human fetal intestinal epithelium. *Gut*. 1988; 29/10; p 1342-1348.