ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

H. PYLORİ VİRÜLANS FAKTÖRLERİ *VACA* VE *DUPA*, MİDE ÜLSERİ VE MİDE KANSERİNİ TAHMİN ETMEK İÇİN PRO İNFLAMASYON SİTOKİNLERİ İLE İLİŞKİLİ

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY tarafından hazırlanan **"*H. Pylori* Virülans Faktörleri *Vaca* ve *Dupa*, Mide Ülseri ve Mide Kanserini Tahmin Etmek için Pro İnflamasyon Sitokinleri İle İlişkili"** adlı tez çalışması 01/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Zahrah Adnan AL-SHAMMERII

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN
Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Oral DÜZDEMİR
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç Dr. Ümit YIRTICI
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu
Kırıkkale Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "***H. Pylori* Virülans Faktörleri *Vaca* ve *Dupa*, Mide Ülseri ve Mide Kanserini Tahmin Etmek için Pro İnflamasyon Sitokinleri İle İlişkili**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/07/2022).

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

H. PYLORİ VİRÜLANS FAKTÖRLERİ *VACA* VE *DUPA*, MİDE ÜLSERİ VE MİDE KANSERİNİ TAHMİN ETMEK İÇİN PRO İNFLAMASYON SİTOKİNLERİ İLE İLİŞKİLİ

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zahrah Adnan AL-SHAMMERII

Helicobacter pylori (*HP*) bakterisi mide kanseri ve ülser hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu normalde semptomsuzdur ancak mide iltihabına ve bağırsak ülserasyonuna yol açabilmektedir. Şubat-Nisan 2022 aylarında, Irak'ın Maysan kentindeki hastanelere başvuran mide ülseri ve mide malignitesi olan hastalardan 150 biyopsi örneği toplanmıştır. İzolatlar, anaerobik koşullar altında Columbia agar, blood agar ve MacConkey plakaları üzerinde nemlendirilmiş bir CO_2 inkübatöründe 3 gün süreyle ekilmiştir. *H. pylori,* (1-2) mm çapında belirgin bir su damlası benzeri koloni olarak ortaya çıkmış ve *H. pylori*'nin IgM ve IgG teşhisi ile tespiti ve Vitek-2, IL-6, IL-8 konsantrasyonlarını belirler, Serum örneklerinde IL-10 ve TNF- ELISA kitleri kullanılarak belirlenmiş ve patojenezden sorumlu virülans genleri 16rRNA, *dupA* ve *VacA*'nın konvansiyonel PCR ile tespiti yapılmıştır. Sonuçlar, yaş grubunun (40-49) en yüksek orana (%33) sahip olduğunu ve yaş grubunun (10-19) en düşük orana (%10) sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada *Helicobacter pylori* enfeksiyonu olan Iraklı hastalarda IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- düzeylerine baktık ve ortalama ± SD 93,46 ± 48,37, 155,01 ± 130,22, 115,894 ± 42,488 ve 103,22 ± 34,706. Tanı tekniğinde üre nefes testi yüksek oranda 69,49 ± 11,908, ardından serolojik test 2,039 ± 1,341 ve fekal Ab saptanması 1,06 ± 0,239 olarak bulunmuştur. *H. pylori*'ye özgü bir primer kullanılarak 16Srna geninin moleküler amplifikasyonu, vakaların 43'ünde (%84,3) pozitif sonuç vermiştir. *VacA* ve *dupA* genleri sırasıyla *HP*'nin 41'inde (%80,3) ve 10'unda (%19,6) bulunmuştur.

2022, 48 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *H. pylori*, Virülans faktörleri, Mide ülseri, Malignite, *VacA* geni, *DupA* geni, Proinflamasyon sitokinleri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

H. PYLORI VIRULENCE FACTORS *VACA* AND *DUPA* RELATED WITH PRO INFLAMMATION CYTOKINES FOR PREDICTING GASTRIC ULCER AND GASTRIC MALIGNANCY

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Yaşar Kemal YAZGAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Zahrah Adnan AL-SHAMMERII

The bacterium *Helicobacter pylori (Hp)* has been related to gastric cancer and ulcer illness. Infection of *Helicobacter pylori* normally with no symptoms but can lead to inflammation of stomach and intestinal ulceration. During the months of February to April 2022, 150 biopsy specimens were collected from patients with stomach ulcers and gastric malignancies who were admitted to hospitals in Maysan, Iraq. Isolates were cultivated for 3 days in a humidified CO_2 incubator on Columbia agar, blood agar, and MacConkey plates at 37C° under anaerobic conditions. *H. pylori* appeared as a distinct water droplet-like colony (1-2) mm in diameter, and detection of *H. pylori* by diagnosis IgM and IgG, and Vitek-2, determine the concentrations of IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- in serum samples were determined using ELISA kits, and detection of virulence genes *16rRNA,dupA*, and *VacA* which are responsible for pathogenesis by conventional PCR. The results showed, the age group (40-49) year had the highest proportion (33%) and the age group (10-19) had the lowest percentage (10%). In this study, we looked at the levels of IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- in Iraqi patients with *Helicobacter pylori* infection, and found that the Mean ± SD 93.46 ± 48.37, 155.01 ± 130.22, 115.894 ± 42.488, and 103.22 ± 34.706. In diagnosis technique urea breath test was recorded a high rate 69.49 ± 11.908 then serological test 2.039 ± 1.341 and fecal Ab detection was 1.06 ± 0.239. Molecular amplification of the 16*Srna* gene employing an *H. pylori*-specific primer yielded a positive result in 43 (84.3%) of the cases. The *VacA and dupA* genes were found in 41 (80.3%) and 10 (19.6%) of *HP*, respectively.

2022, 48 pages

Keywords: *H. pylori*, Virulence factors, Gastric ulcer, Malignancy, *VacA* gene, *DupA* gene, Proinflamation cytokines

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Kemal YAZGAN'e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

Çankırı, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1 GİRİŞ **1**
1.1 Bu Çalışmanın Amaçları **2**
2 LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 *Helicobacter Pylori*'nin Tarihi **3**
2.2 *Helicobacter Pylori*'nin Özellikleri **3**
2.3 İletim **5**
2.4 Klinik Belirtiler **5**
2.5 Epidemiyoloji **6**
2.6 Tanı **7**
2.7 Tedavi **8**
2.8 Virülans Faktörleri **10**
2.8.1 Vakuolasyon sitotoksin A **10**
2.9 Duodenal Ülser Teşvik Edici Gen A (*dupA*) **12**
2.10Enfeksiyon ve Mide Hastalıkları **12**
2.10.1 Gastrit **12**
2.10.2 Gastrik ülser (GU) **13**
2.10.3 Mide kanseri (GC) **14**
2.11*Helicobacter Pylori* ve Sitokinler **14**
3 MATERYAL VE METOT **16**
3.1 Materyal **16**
3.1.1 Çalışma tasarımı **16**
3.1.2 Malzemeler **16**

3.1.3 Enzim bağlantılı bağışıklık sorbent tahlili (ELISA) analizi 17
3.2 Metot 20
3.2.1 Medya hazırlığı 20
3.2.2 *H. pylori*'nin tanımlanması 20
3.2.3 Biyokimyasal yöntemler 21
3.2.4 Vitek-2 kompakt sistem (Kat.no.) 22
3.2.5 Moleküler biyolojik çalışmalar 22
3.3 İstatistiksel Analiz 25
4 BULGULAR VE TARTIŞMA 26
4.1 Çalışma Örneğinin Tanımı 26
4.2 Dağılım Yaş (Yıl) Grubu ve Cinsiyet 26
4.3 Teşhis Yöntemleri 28
4.4 *Helicobacter pylori* ve sitokinler 30
4.5 Moleküler Çalışma 31
4.5.1 16SrRNA, *VacA* ve *dupA* genleri ile *HP* tespiti 32
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 36
5.1 Sonuç 36
5.2 Öneri 36
KAYNAKLAR 37
EKLER 45
ÖZGEÇMİŞ 48

SİMGELER DİZİNİ

-	Eksi
%	Yüzde
+	Artı
dL	Desilitre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m^2	Metrekare
min	Dakika
mL	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
µL	Mikro litre

KISALTMALAR DİZİNİ

BHI	Beyin kalp infüzyon suyu
GC	Mide kanseri
GU	Gastrik ülser
HB	Helicobacter pylori
SAT	Dışkı antijen testi
ST	Serolojik test
UBT	Üre nefes testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 İnvaziv olmayan testler (Mohammadian and Ganji 2019) 7
Şekil 2.2 *H. pylori* tedavisi (Kurakula and Koteswara Rao 2021) 9
Şekil 2.3 *VacA* patogenezinin şematik gösterimi (Palframan *et al.* 2012) 11
Şekil 2.4 Sinyal, orta ve orta bölge bazında *VacA*'nın çeşitli alelik formları (Khatoon *et al.* 2016) 11
Şekil 2.5 *H. pylori* enfeksiyonunda antral ve vücut baskın gastrit ile hastalık sonuçları arasındaki ilişki (Zendehdel 2014) 13
Şekil 3.1 IL-6 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri 18
Şekil 3.2 IL-8'in belirlenmesi için standart eğri 18
Şekil 3.3 IL-10'un belirlenmesi için standart eğri 19
Şekil 3.4 TNF-α'nın belirlenmesi için standart eğri 19
Şekil 4.1 Tanılama tekniklerine göre HP enfeksiyonu yüzdesi 29
Şekil 4.2 *H. pylori* enfeksiyonunda dağılım sitokinleri 30
Şekil 4.3 *H. pylori*'den izole edilen genomik DNA'nın jel elektroforezi 31
Şekil 4.4 Amplifiye edilmiş *VacA*'nın (286bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi 32
Şekil 4.5 Amplifiye edilmiş *dupA*'nın (971bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi 33
Şekil 4.6 Amplifiye edilmiş 16Srna'nın (1410 bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi 33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan ekipman ve aparatlar 16
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve kitler 17
Çizelge 3.3 Bu çalışmayı kullanan primerlerin dizisi 24
Çizelge 3.4 Maxime PCR PreMix kitinin Bileşenleri (i-Taq) 24
Çizelge 3.5 PCR'nin reaksiyon bileşenleri 24
Çizelge 3.6 16Srna, *dupA* ve *VacA* geninin PCR Bisiklet Programı 25
Çizelge 4.1 Anne eğitimi ve yurtlara göre dağılım yaş (yıl) grubu ve cinsiyet 26
Çizelge 4.2 *H. pylori* enfeksiyonu tanı teknikleri 28
Çizelge 4.3 *H. pylori'*de *VacA* ve *dupA* genlerinin tespiti 32

1 GİRİŞ

Helicobacter pylori (H. pylori)(*HP*), eski adı Campylobacter pylori olup, midede yaygın olarak bulunan gram negatif, sarmal (spiral) ve mikroaerofilik bir bakteridir (AbuElghait *et al.* 2019).

Spiral formunun (helicobacter cinsinden türetilmiştir), mideden mukoid astarı delmesine ve dolayısıyla bulaşmaya başlamasına izin vermek için gerekli olduğu varsayılmaktadır. Avustralyalı bilim adamları Barry Marshall ve Robin Warren, 1982'de bakterileri ilk keşfeden kişilerdir. Yemek borusu, mide, kolon ve rektumdaki mukoza ile ilişkili lenfoid dokunun lenfomaları. Ayrıca göz çevresindeki dokularda (B hücreli lenfoma) ve midedeki lenfoid dokuda *H. pylori* ile ilişkilendirilmiştir (Li *et al.* 2017).

H. pylori enfeksiyonunun normalde hiçbir semptomu yoktur, ancak mide iltihabına (gastrit) veya mide ve ince bağırsak ülserasyonuna yol açabilmektedir. Vakaların %20'sinden daha azında enfeksiyon, bazı malignitelerin gelişimiyle de bağlantılıdır. Pek çok araştırmacı, *H. pylori*'nin farklı hastalıklardan çeşitli hastalıkları etkilediğine veya önlediğine inanmaktadır, ancak bunlardan sadece birçoğu hala tartışılmaktadır (Chmiela *et al.* 2017).

Bazı araştırmalara göre, *H. pylori*, mide bağırsak sistemini dolduran bakteri türlerini etkilemek gibi midenin doğal ekolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Ek araştırmalar, patojenik olmayan *H. pylori* suşlarının iştahı kontrol etmeye ve mide asidi çıkışını düzeltmeye yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (Shafaghi *et al.* 2016).

Hold tarafından yapılan araştırmaya göre, dünya nüfusunun yarısından fazlasının üst mide-bağırsak yollarında *H. pylori*'ye sahip olduğu, kolonizasyon (veya enfeksiyon) ile birlikte gelişmekte olan ülkelerde daha sık meydana geldiği tahmin edilmektedir. Gastrointestinal sistemdeki *H. pylori* enfeksiyonu, son yıllarda birkaç ülkede azaltılmıştır (Hold and Hansen 2019).

1.1 Bu Çalışmanın Amaçları

1. Gastrik ülserli serum hastalarında IgM ve IgG teşhisi ile *H. pylori*'nin immünolojik tespiti.
2. Konvansiyonel PCR ile biyokimyasal testler ve moleküler teknikle *H. pylori*'nin araştırılması.
3. Patogenezden sorumlu bir virülans geni olan 16rRNA, *dupA* ve *VacA*'nın saptanması.
4. IL-6, Il-8, TNf-α ve IL-10'un saptanmasıyla mide ülseri ve mide kanserinin tahmini.

2 LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Helicobacter Pylori*'nin Tarihi

1989'da 16S ribozomal RNA gen dizilimi ve diğer çalışmalar bakterinin Campylobacter cinsine ait olmadığını gösterse de, ona eski Yunanca "spiral" veya "bobin" anlamına gelen hlix kelimesinden gelen kendi cinsi Helicobacter verilmiştir (Ocejo *et al.* 2019).

Helicobacter pylori ve insan ev sahibi, yaklaşık 60,000 yıl önce Afrika'dan ayrılmıştır. Yakın tarihli bir araştırmaya göre, *H. pylori* genetik çeşitliliği, Doğu Afrika'dan yayılma ile birlikte azalmaktadır. Araştırmacılar, yaklaşık 58,000 yıl önce Doğu Afrika kökenli bakteriyi gösteren genetik çeşitlilik verilerine dayanan modeller oluşturmuşlardır. Bulguları, *H. pylori*'nin Afrika'dan çıkmadan önce modern insanları zaten enfekte ettiğini ve insan konaklarıyla bağlantılı olduğunu göstermektedir. Küresel bir disiplinler arası araştırma grubu ve *HP*'ye adanmış tek kurum olan Avrupa Helicobacter Study Organisation (EHSG), 1987 yılında bir grup profesyonel tarafından Kopenhag'da kurulmuştur. Helicobacter ve İlgili Bakteriler Grubu, Helicobacter ve Bakteriler ile ilgili Yıllık Uluslararası Çalıştayda karmaşıktır. Avrupa *HP* Denetim Kaydı, Avrupalı astroenterologların olağan klinik uygulamalarını sistematik olarak kaydeden bir veri tabanıdır (Hoal *et al.* 2018).

2.2 *Helicobacter Pylori*'nin Özellikleri

Helicobacter pylori'nin morfolojisi, helisel şekilli (spiroket değil, eğri bir çubuk olarak tanımlanır) ve yaklaşık 3 m uzunluğunda ve yaklaşık 0,5 m çapında Gram negatif bir bakteridir. Gram boya, hematoksilen eozin boyası, Giemsa boyası, akridin turuncu boyası ve Warthin Starry gümüş boyası faz kontrast mikroskopisi, dokuda *H. pylori*'yi göstermek için kullanılabilir. Biyofilmler oluşturabilir ve spiralden potansiyel olarak mümkün olana geçiş yapabilir, ancak form kültürlenemeyen kokoiddir (Roller and Gowan 2018).

HP, aynı zamanda (4-6) kamçıya sahiptir ve kamçı, tüm enterohepatik ve mide Helicobacter türlerini çok hareketli hale getirir. Helicobacter'in kılıflı flagellar filamentleri, *FlaB* ve *FlaA* olarak adlandırılan 2 kopolimerize flagellinden oluşur. *Helicobacter pylori* mikroaerofilik bir fizyolojiye sahiptir, yani O_2'ye ihtiyaç duyar, ancak atmosfere kıyasla daha düşüktür. Enerji sağlamak için bağırsak bakterileri tarafından üretilen moleküler hidrojeni (H_2) okside edebilen bir hidrojenaz enzimine sahiptir (Wang *et al.* 2016).

Oksidaz, katalaz ve üreaz onun tarafından üretilir. *H. pylori*'nin dış zar protein aileleri beş gruba ayrılır. Yapıştırıcılar iki gruba ayrılır: bilinen yapıştırıcılar ve varsayımsal yapıştırıcılar. Porinler, flagellum ilişkili proteinler, demir taşıyıcılar ve işlevi belirsiz proteinler diğer dört gruptur. *H. pylori*'nin dış zarı tıpkı diğer Gram negatif bakteriler (LPS) gibi lipopolisakkarit ve fosfolipidlerden oluşur (Singh *et al.* 2021).

LPS'nin O antijeni fukozile olabilir, bu da mide epitelindeki Lewis kan grubu antijenleri gibi görünmesini sağlar. Sadece birkaç yeni bakteride bulunan kolesterol glikozitler, aynı zamanda dış zarda da bulunur (Ewald and Sumner 2018).

H. pylori genomu çok sayıda suştan oluşur ve yüzlerce genomdan dizilenir. Suş genomu yaklaşık 1,7 milyon baz çifti uzunluğundadır ve 1,576 gen içerir. Toplam (2,239) protein ailesi, dizilmiş 30 suştan (ortolog gruplar, OG'ler) oluşan bir koleksiyon olan pan genomu tarafından kodlanır. Evrensel çekirdek, 30 suşun tamamında korunan 1,248 OG'den oluşur. Kalan "991" OG'ler, genom aksesuarının bir parçasıdır ve bunların "277"si tektir (OG'ler yalnızca bir suşta geçerlidir). (Sharma *et al.* 2010) *Helicobacter pylori*'nin transkriptomunda diferansiyel RNA\seq ile tek nükleotid kalıcılığında tam bir transkripsiyon araştırması sunarak, cag patojenite adası veya üreaz (üre) operonu gibi önemli virülans lokuslarının tanımlanmış asit uyarımını doğrulanmıştır (Pohl *et al.* 2019).

Daha da önemlisi, bu çalışmada "1,907" transkripsiyonel başlangıç bölgesi, "337" majör operon, "126" ek altoperon ve 66 monosistron keşfedilmiştir. Bu türde, siteler (TSS'ler) 2010 yılına kadar yalnızca yaklaşık 55 transkripsiyonel başlangıç keşfetmiştir. Dikkat çekici bir şekilde, ana TSS'lerin yüzde 27'si çok antisens TSS'lerdir, bu da antisens

transkripsiyonunun *E. coli*'de olduğu gibi *H. pylori* genomu boyunca gerçekleştiğini gösterir. Pek çok temizlik geni içeren mevcut tüm okuma çerçeveleri arasında yaklaşık "%46" en az bir antisens TSS'ye sahiptir (Zamani *et al.* 2017).

2.3 İletim

Helicobacter pylori'nin gerçek bulaşma mekanizması bilinmemekle birlikte bulaşıcıdır. İnsandan insana bulaşma büyük olasılıkla oral-oral veya fekal-oral yollarla olur. Bakteriler, etkilenen birkaç kişinin dışkı, tükürük ve diş plaklarında tespit edilmiş olup, bu iletim mekanizmalarını doğrulamaktadır. Bulgulara göre *HP*, tükürükten ziyade gastrointestinal mukus yoluyla daha kolay aktarılır. Daha zengin ülkelerde, bulaşma çoğunlukla ailelerin çevresinde gerçekleşir, ancak azgelişmiş ülkelerde halk yoluyla da edinilebilir. *H. pylori* ağızdan dışkı yolu ile veya kirli atık su alımı yoluyla da yayılabilir, bu nedenle temiz bir ortamın sağlanması enfeksiyon olasılığını azaltmaya yardımcı olabilir (Sarmah *et al.* 2018).

2.4 Klinik Belirtiler

HP ile enfekte olanların %90'a kadarı hiçbir belirti veya sonuç yaşamıyor. *HP* ile enfekte olan kişilerde ise yaşamları boyunca peptik ülser gelişme olasılığı %10 ile %20 arasındadır. Akut bir enfeksiyon karın ağrısı (mide ağrısı), bulantı, şişkinlik, geğirme ve kusmanın yanı sıra akut gastrit ağrıları, mide bulantısı, şişkinlik, geğirme ve kusmaya neden olabilir. Ağrı en çok mide boşken, öğün aralarında veya sabah ilk iş olarak görülür, ancak diğer zamanlarda da ortaya çıkabilmektedir (Malfertheiner *et al.* 2017).

Koyu renkli dışkılardan geçişin gösterdiği gibi mide kanaması da olabilir; kronik kanama anemiye yol açarak halsizlik ve yorgunluğa neden olabilir. Kanama şiddetli ise hematemez, hematokezya veya melena gelişebilir (Horrigan *et al.* 2021).

Duodenal ülserlerin mideyi duodenuma bağlayan pilorik ant romunun iltihaplanmasından kaynaklanması daha olasıyken, mide ülserlerinin korpusun (midenin ana gövdesi)

iltihaplanmasından kaynaklanması daha olasıdır. Bu organların mukoza zarlarından çıkan ve malign olmayan doku büyümeleri olan kolorektal ve gastrik polipler, *HP* ile enfekte kişilerde ortaya çıkabilir (Aziz *et al.* 2020).

Mide polipleri, çoğu polip asemptomatik olmasına rağmen dispepsi, mide ekşimesi, üst GI kanaması ve nadir durumlarda gastrik çıkış obstrüksiyonuna neden olabilir (Chowdhury *et al.* 2019).

2.5 Epidemiyoloji

Bakteriler dünya nüfusunun en az yarısına bulaştı ve onu gezegendeki en yaygın hastalık haline getirmiştir. Gerçek enfeksiyon oranları ülkeye göre farklılık gösterir; yoksul dünyada, enfeksiyon oranları, oranların yaklaşık %25 olduğuna inanılan Batı'dan (Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralasya) önemli ölçüde daha yüksektir (Troeger *et al.* 2018).

Bir kişinin bu bakterilere bulaştığı yaş, enfeksiyonun patolojik prognozu üzerinde bir etkiye sahip gibi görünmektedir. Genç yaşta enfekte olan kişiler, atrofik gastrite ve daha yüksek mide ülseri, mide kanseri veya her ikisine birden yol açabilen şiddetli inflamasyon geliştirmeye daha yatkındır. Daha ileri yaşlarda alındığında, duodenum ülseri ile sonuçlanma olasılığı daha yüksek olan çeşitli mide değişiklikleri meydana gelir (Liou *et al.* 2020).

Irak'ta daha önce yapılan bir araştırmaya göre, *HP* enfeksiyonunun sıklığı, çocuklarda %27'den gençlerde %58'e kadar değişen yaş grubuna göre değişiyordu. Aynı çalışmada enfeksiyon oranı yüzde 78 idi ve bu, gençlerdeki sıklıktan çok daha fazlaydı (Ali *et al.* 2017).

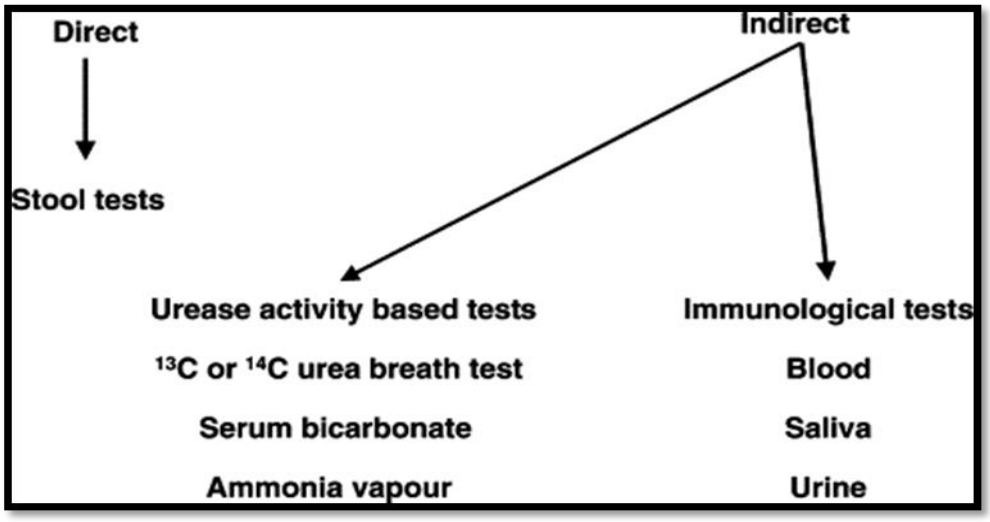
Ek olarak, önceki bir çalışma *HP* enfeksiyonunu düşük sosyoekonomik konuma, sıkışık veya kötü yaşam koşullarına, eğitim eksikliğine veya kötü içme suyu kalitesine ve kötü sanitasyon uygulamalarına bağladı (De Vries *et al.* 2008).

2.6 Tanı

HP enfeksiyonunu teşhis etmek için invaziv ve non-invaziv prosedürler de kullanılabilir. Endoskopi, kültür ve hızlı üreaz testi sırasında toplanan biyopsi örneklerinin histolojik çalışması, geçmişte *HP* enfeksiyonunu teşhis etmek için kullanılmıştır. Endoskopi ise pahalıdır, hastalar için rahatsız edicidir ve mütevazı ama önemli bir komplikasyon riski içermektedir. Sonuç olarak, *HP* ile Enfeksiyonu teşhis etmek için non-invaziv testler kullanılmaktadır. Ek olarak, bazı kılavuzlar dispepsi için birinci basamak tedavi olarak non-invaziv tanı yöntemlerinin kullanılmasını önermektedir (Malfertheiner *et al.* 2017).

HP enfeksiyonunu teşhis etmek için bir dizi invaziv olmayan test mevcuttur. "Doğru" non-invaziv testi seçmek zordur ve çok sayıda faktör dikkate alınmalıdır: duyarlılık, özgüllük ve pozitif veya negatif bir sonuçtan sonra enfeksiyona sahip olma veya olmama olasılığı dikkate alınması gereken faktörlerdir (Stefano *et al.* 2018).

Doğrudan ve dolaylı non-invaziv testler, mevcut iki tür non-invaziv testtir (Şekil 2.1). *HP* enfeksiyonunun doğrudan kanıtı için doğrudan test kontrolü. Dışkı testi, dışkıda bakteriyel antijenlerin bulunup bulunmadığını belirler. Dolaylı testler, *HP*'ye karşı antikorların varlığı veya bakterinin üreaz aktivitesinin bir ifadesi olan nefesteki etiketli CO_2 miktarı gibi dolaylı enfeksiyon belirtilerini arar (Mohammadian and Ganji 2019).



Şekil 2.1 İnvaziv olmayan testler (Mohammadian and Ganji 2019)

2.7 Tedavi

H. pylori enfeksiyonunu tedavi etmek için birkaç yaklaşım vardır; yine de etkili bir tedavi tanımlanmamıştır ve hiçbir antibiyotik tedavisi hastalığı tamamen ortadan kaldıramaz. Tarihsel olarak, hastalık bir antibiyotik karışımı ile tedavi edilmiştir. Klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, tetrasiklin, florokinolonlar, tinidazol ve diğer antibiyotikler kullanılmıştır (Ciccaglione *et al.* 2016).

Antibiyotikler sıklıkla ÜFE'ler veya bizmut tuzları gibi salgı önleyici ilaçlarla birlikte kullanılır. *HP* enfeksiyonunun en sık görülen semptomu akut veya kronik yüzeyel gastrittir. Bu gastritin klinik semptomlarının birçok kişide *HP* eradikasyon tedavilerine başvurmadan kendiliğinden geçtiği görülmüştür. Çoğu durumda, *HP*'nin neden olduğu bakteriyel enfeksiyon, remisyondan sonra da devam eder. Bakteriyi uzaklaştırmak ve hastalığı başarılı bir şekilde tedavi etmek için çeşitli antibiyotik artı proton pompa inhibitörü ilaç rejimleri kullanılır (Xu *et al.* 2022), Klaritromisin, amoksisilin ve 14-21 gün boyunca alınan bir proton pompa inhibitörü sıklıkla birinci basamak tedavi olarak kabul edilir (Murata *et al.* 2020).

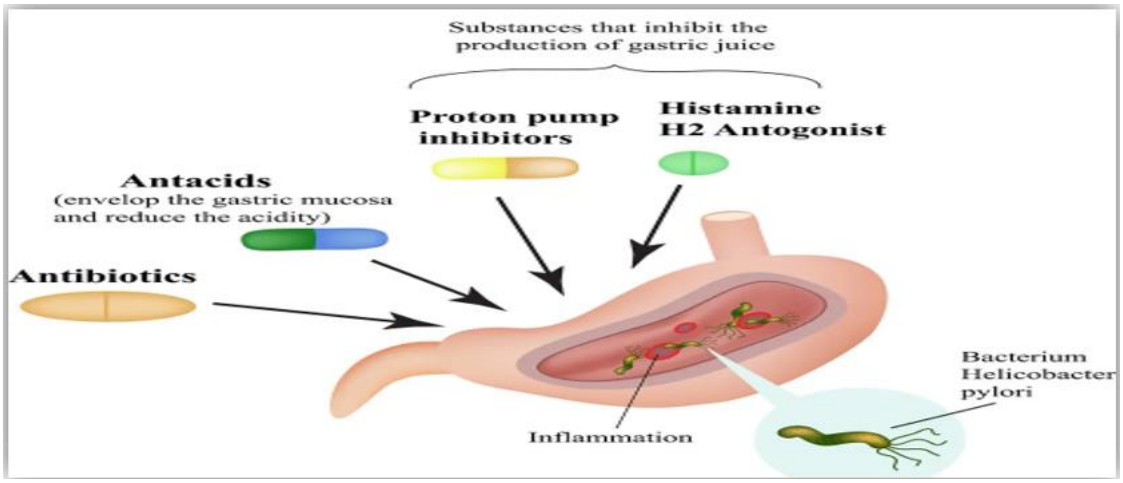
Peptik ülseri olan bir hastada *HP* keşfedildiğinde, tipik tedavi bakteriyi uzaklaştırmak ve ülserin kendi kendine iyileşmesine izin vermektir. Birinci basamak tedavi, omeprazol gibi proton pompası inhibitörleri ve klaritromisin ve amoksisilin gibi antibiyotiklerle bir haftalık "üçlü tedavi"dir. Pantoprazol veya rabeprazol gibi farklı bir proton pompası inhibitörü kullanmak veya penisiline alerjisi olan hastalarda metronidazolün amoksisilin ile değiştirilmesi gibi üçlü tedavinin birçok modifikasyonu zaman içinde geliştirilmiştir (Marcus *et al.* 2016).

Klaritromisin direnci prevalansının daha yüksek olduğu yerlerde diğer antibiyotikler tavsiye edilir. Böyle bir tedavi peptik ülser tedavisini değiştirmiş ve hastalığı iyileştirmeyi mümkün kılmıştır. Daha önce semptom yönetimi tek seçenekti (Jones *et al.* 2017).

Antibiyotiğe dirençli mikroorganizmalar, etkilenen insanların artan bir oranında keşfedilmektedir. Bu, tedavi başarısızlığına ve bizmut subsalisilat gibi bir bizmut kolloidinin dahil edilmesini içeren dörtlü terapi gibi daha fazla antibiyotik veya alternatif tekniklere ihtiyaç duyulmasına yol açmaktadır (Lauman and Dennis 2021).

Üçlü tedavide bir proton pompası inhibitörü, bizmut ve tetrasiklin kullanılır ve geçmişte makrolidlere maruz kalmış veya penisilin alerjisi olan bireylerde birinci basamak tedavi seçeneği olarak 10-14 gün süreyle nitro imidazol önerilmektedir. Antibiyotiğe dirençli *HP* suşlarının tedavisinde klaritromisin kullanımının bir parçası olarak levofloksasin kullanımı önerilmiştir (Randel *et al.* 2018).

Laktik asit bakterileri tüketildiğinde *H. pylori* baskılanır. Ek olarak *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* açısından zengin yoğurdun alınması, hem hayvanlarda hem de insanlarda *HP* yok etme oranlarını artırdı. Bağırsakta doğal olarak bulunan simbiyotik bütirat üreten bakteriler, insanlarda *HP*'yi önlemeye yardımcı olmak için bazen probiyotikler olarak kullanılmaktadır. Bütirat, antibiyotik tedavisine yardımcı olarak *HP* enfeksiyonlarının hücre zarfına zarar veren bir antibakteriyeldir (Şekil 2.1). *Pylori*'yi düzenleyici T hücre ekspresyonunu uyararak (özellikle FOXP3) ve bir histon deasetilaz inhibitörü olarak üretilen LL-37 olarak bilinen bir antimikrobiyal peptitten üreterek (Kurakula and Koteswara Rao 2021).

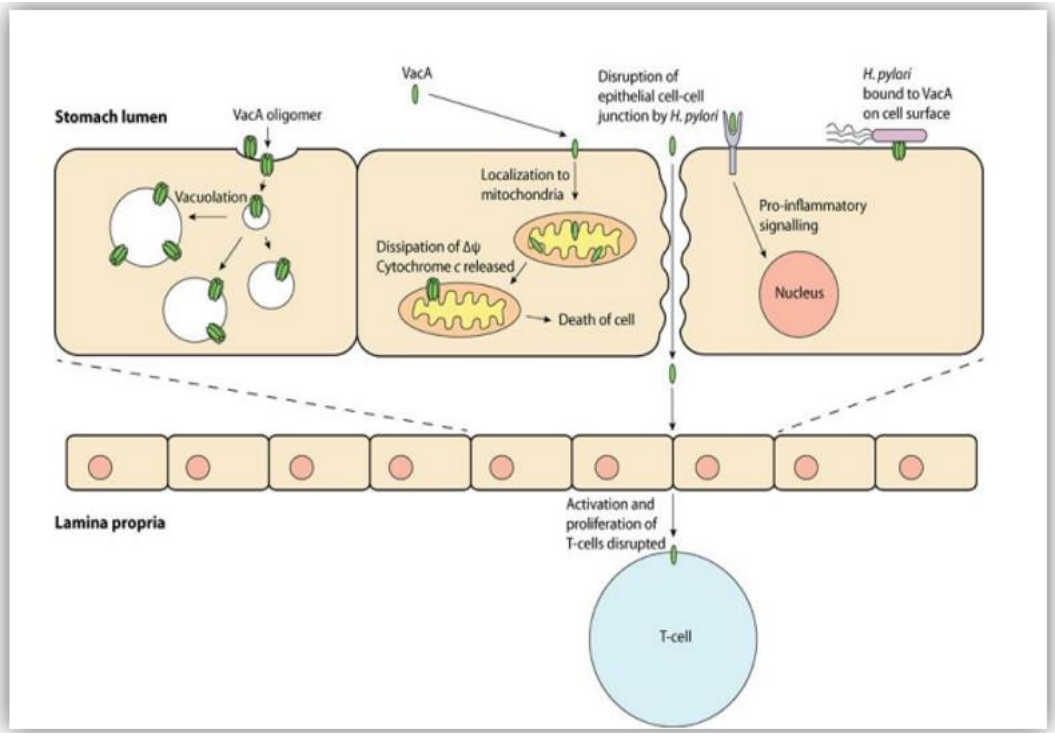


Şekil 2.2 *H. pylori* tedavisi (Kurakula and Koteswara Rao 2021)

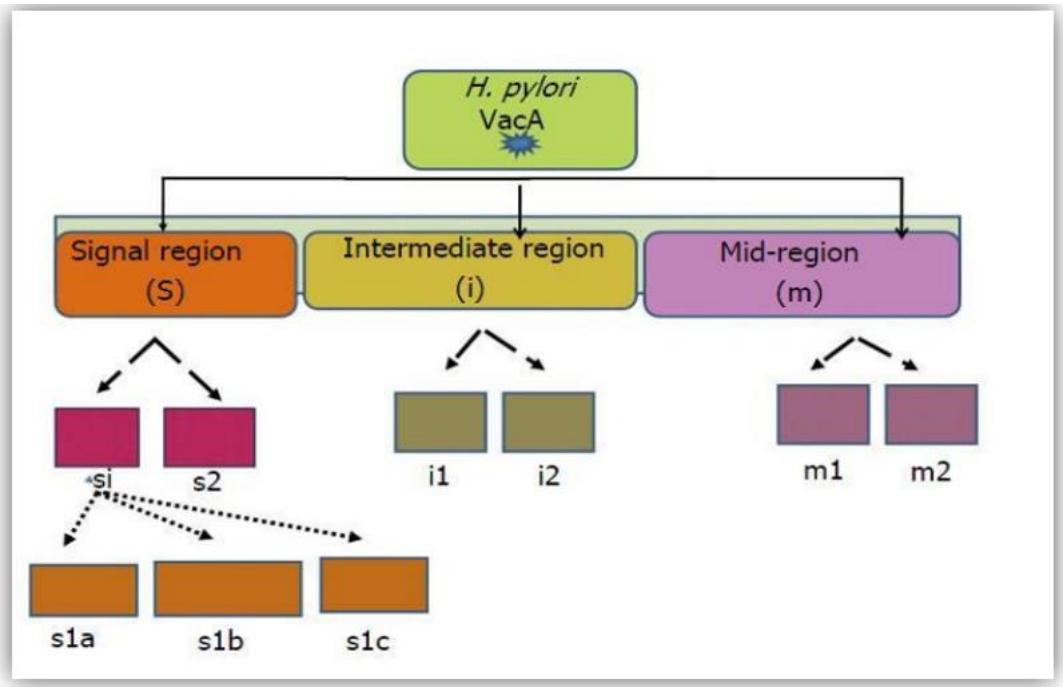
2.8 Virülans Faktörleri

2.8.1 Vakuolasyon sitotoksin A

H. pylori, bir oto-taşıyıcı veya tip V salgılama yolu yoluyla *vacA* olarak bilinen bir protein salgılar. *VacA* başlangıçta. *vacA*'nın neden olduğu hücresel modifikasyonların çoğu, hücre zarlarında gözenek oluşturma kapasitesinin bir sonucudur (Şekil 2.3). *vacA* üretiminde veya bunun konak hücreler üzerindeki modüle edilmiş etkilerinde suşlar arasında sekans çeşitliliğine yansıyan önemli farklılıklar vardır. s, i ve m bölgeleri olarak tanımlanan *vacA* bölgelerindeki dizi çeşitliliğine dayalı olarak birkaç *vacA* alel alt tipi rapor edilmiştir (Şekil 2.4). *vacA* s bölgesinde ayrıca iyi tanımlanmış dört alt tip (s1a, s1b, s1c ve s2) tanımlanmıştır. Genel olarak, *vacA* s1 prevalansı Mısır, Afrika %36,0 ile Doğu Asya %95,0 arasında değişmektedir. En yaygın s1 suşu alt tipleri şu coğrafi bölgelerde bulundu: *vacA* s1c Doğu Asya %73,0, *vacA* s1b Güney Amerika %70,5, Güney Avrupa %46,5, *vacA* s1a Kuzey Avrupa %65,4. Genel olarak, suşların çoğunun %86,2 *vacA* m1 alt tipine sahip olduğu Güney Avrupa ve Güney Amerika dışında, *vacA* m alt tipinin m1 veya m2 olarak eşit olarak dağıldığı bulunmuştur. s1, i1 veya m1 alt tipine sahip *vacA* alellerini içeren suşların, s2, i2 veya m2'ye sahip olanlardan önemli ölçüde daha yüksek vakuolasyon aktivitesine sahip olduğu ve PUD, IM ve GCA. *vacA* s1/m1/i1'e sahip suşlar, kısmen, aşırı parietal hücre asidi üretiminden ve immün hücre disfonksiyonundan kaynaklanan *vacA*'nın neden olduğu gastrik mukozal hasar yoluyla kanserojen etkilerini gösterebilmektedir (Pinto-Ribeiro *et al.* 2016).



Şekil 2.3 *VacA* patogenezinin şematik gösterimi (Palframan *et al.* 2012)



Şekil 2.4 Sinyal, orta ve orta bölge bazında *VacA*'nın çeşitli alelik formları (Khatoon *et al.* 2016)

2.9 Duodenal Ülser Teşvik Edici Gen A (*dupA*)

Duodenal ülseri teşvik eden bir gen olan *DupA*, yakın zamanda keşfedildi ve IL8 salgılanmasını indüklemede bir işlev oynadığı kanıtlanmıştır. Güney Kore, Japonya ve Kolombiya'dan insanlarda, *dupA*'nın varlığı duodenal ülserlerle önemli ölçüde bağlantılıydı, ancak mide kanseriyle negatif bağlantılı olduğu bulunmuştur. *DupA* geni, yüzey proteinleri üreten bir bakteriyel genomik bölgede bulunan bir *VirB*4 homologudur (Fischer *et al.* 2020).

H. pylori genomunun plastisite bölgesi, jhp0917 ve jhp0918 olmak üzere iki açık okuma çerçevesine sahiptir. Şaşırtıcı bir şekilde, *dupA*, tip IV salgılama sisteminin (TFSS) bir bileşen proteinini kodlayan Agrobacterium tumefaciens'teki bir gen olan virB4'e benzerdir (Waskito *et al.* 2018).

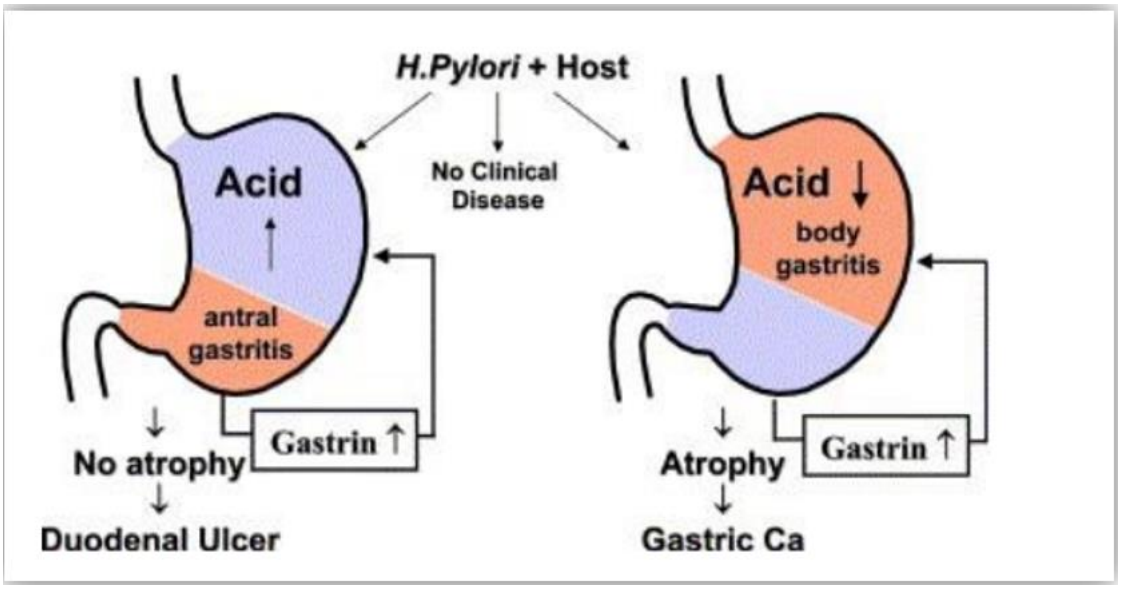
DupA pozitif suşlarla enfekte olmak gastrit ve duodenum ülseri insidansını artırdı, ancak bulgulara göre mide atrofisi, bağırsak metaplazisi ve mide kanserine karşı koruyucuydu. *DupA, HP*'de DU ve GC'ye karşı farklı duyarlılıkla ilişkili ilk genetik bileşendir ve hastalığa özgü bir virülans belirteci olarak kullanılabileceğini düşündürür. Antrumda yüksek interlökin IL-8 üretiminin aktivasyonu, iyi bilinen bir DU semptomu olan antrum baskın gastrite yol açan *dupA*'nın patojenik mekanizması gibi görünmektedir (Shiota *et al.* 2013).

2.10 Enfeksiyon ve Mide Hastalıkları

2.10.1 Gastrit

Akut *H. pylori* enfeksiyonu, epigastria ağrısı, mide bulantısı ve kusma gibi kısa süreli ve tüm mide mukozasının belirgin inflamasyonu gibi spesifik olmayan şikayetlerle ilişkili olabilir. gastritin çözülmesi ve eğer öyleyse, bunun ne sıklıkta ortaya çıktığı. Enfeksiyon kalıcı hale geldiğinde, gastritin dağılımı ve şiddeti ile klinik fenotip arasında yakın bir ilişki vardır. *H. pylori*-antral baskın gastrit, mide gövdesindeki parietal hücrelerden mide

asidi üretimini artırarak, duodenumda mide metaplazisine ve duodenal ülser (DU) riskine yol açmaktadır (Şekil 2.5). Alternatif olarak, *H. pylori* cisimciği baskın gastrit, mide atrofisi (AG), mide ülseri (GU) ve bağırsak metaplazisi (İM) gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Bu malign öncesi lezyonlar (IM ve AG), artan distal GCA 37 riski ile ilişkilidir. AG, IM ve GCA için gösterilen diğer risk faktörleri aşırı tuz tüketimi, sigara, ailede mide kanseri öyküsü, düşük sosyoekonomik düzeydir (Pinto-Ribeiro *et al.* 2016).



Şekil 2.5 *H. pylori* enfeksiyonunda antral ve vücut baskın gastrit ile hastalık sonuçları arasındaki ilişki (Zendehdel 2014)

2.10.2 Gastrik ülser (GU)

Pangastritik bir inflamatuar paternle bağlantılıdır ve normal asit üretiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Antrum ve daha küçük gastrik eğri üzerindeki vücut arasındaki geçiş bölgesi, GU'nun en sık geliştiği yerdir. Mide ülseri hastalarının yüzde 80'inde *HP* tespit edilir. Normal veya aşırı asit salgısı olanlarda asit salgısı normal veya yüksektir (Alam *et al.* 2014), *HP* düşük asit çıkışı nedeniyle korpusta normalde kolonize olmaz; bununla birlikte, asit sekresyonu düşük olduğunda, kolon istasyonu mide mukozası boyunca eşit olarak dağılacaktır. *HP*'nin neden olduğu koloni istasyonu, ilerleyici inflamatuar hücre infiltrasyonuna ve epitel hücre soyulmasına neden olur. Değişiklikler, artan müsin ve bikarbonat üretimiyle sonuçlanır, mukus bariyerini

zayıflatır ve dokuyu ülserasyona karşı daha savunmasız hale getirmektedir (Kountouras *et al.* 2014).

2.10.3 Mide kanseri (GC)

H. pylori enfeksiyonu ve mide kanseri epidemiyolojik araştırmalarda ilişkilendirilmiştir. *H. pylori* seropozitifliği ve GC arasındaki bağlantıyı değerlendiren iki meta-analizde, *H. pylori* enfeksiyonu, distal GC geliştirme riskiyle iki kat daha fazla bağlantılıydı. Mide adenokarsinomlarının iki formu vardır: bağırsak tipi ve yaygın tip. Diffüz mide adenokarsinomunun aksine, bağırsak mide adenokarsinomunun kalıtsal olmaktan ziyade spontan olma olasılığı daha yüksektir ve ayrıca diyet, sigara içimi ve alkol tüketimi gibi çevresel değişkenlerle bağlantılı olması daha olasıdır (Fisher *et al.* 2020).

Kronik aktif gastrit, kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve nihayetinde invaziv adenokarsinom, intestinal tip GC'ye yol açan patofizyolojik süreçlerdir. GC'nin 2018'de 1,000,000'den fazla yeni vakadan ve beklenen 783,000 ölümden sorumlu olduğu için dünya çapında önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmekte fayda var, bu da dünya genelinde her 12 ölümden yaklaşık 1'ine eşittir. Doğu Asya'da yaşa göre standartlaştırılmış insidans oranları çok daha yüksektir (Kuzey Amerika (yılda 100,000 kişi başına 7,6) ve Kuzey Avrupa'dan (yılda 100,000 kişi başına 9,3) (Gullo *et al.* 2020).

2.11 *Helicobacter Pylori* ve Sitokinler

Patojenin inflamatuar yanıtı, birçok gastrointestinal hastalıkta mukozal hasara ve epitel disfonksiyonuna önemli ölçüde katkıda bulunabilmektedir. *H. pylori* bakterileri ile enfeksiyon muhtemelen bunun en iyi örneğidir. Pek çok proinflamatuar ve immün düzenleyici sitokin ile peptitlerin kemokin ailesinin üyeleri, *H. pylori* ile enfeksiyondan sonra mukozada artmaktadır. Bir sitokin ağı, epitel hücresini diğer mukozal hücre tiplerine bağlayarak akut mukozal inflamasyona neden olmaktadır. Bu, *H. pylori* enfeksiyonu için birincil hedeftir ve konakçı ile bakteri arasında hayati bir bağlantı görevi görmektedir. 2 Bu iki reaksiyon, tümör nekroz faktörü-a (TNF-a), interlökin IL-1, IL-6

ve IL-8 gibi enflamatuar sitokinlerin üretilmesinden sonra farklı şekilde düzenlenebilir (Yousefi *et al.* 2019).

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışma tasarımı

Mevcut çalışma Şubat 2022'den Nisan 2022'ye kadar gerçekleştirildi ve Maysan kentindeki hastanelerden mide ülseri ve mide malignitesi hastaları için yüz elli biyopsi örneği toplanmıştır. (EK 1), (EK 2)

3.1.2 Malzemeler

Ekipman ve aparatlar

Çizelge 3.1, üretici ve menşe ülke ile birlikte araştırma sırasında kullanılan ekipman ve aparatları listeler.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan ekipman ve aparatlar

Apparatus	**Company/Origin**
AURA TM PCR Cabinet	Labnet/İtalya
Microspin 12, High Speed mini-centrifuge	Bio San/Almanya
V-1 plus, Personal Vortex for tubes	Digsystem/Almanya
Bio TDB-100, Dry block thermostatbuilt	Bio San/Almanya
Biopette Variable Volume	Labnet/İtalya
Mini-Power Supply 300V,2200V	Suplier/Çin
MultiGene OptiMax Gradient Thermal Cycler	Labnet/ABD
Electrophoreses	CBS,Scientifict/ABD
Document system	Labnet/ABD
UV Transmission	Vilber lourmat/Fransa
Microspin 12, High Speed mini-centrifuge	Biosan/Letonya
Combi-spin	Biosan/Letonya
Balance	Kernpfb/Almanya
Incubation	Jrad/Çin
VITEK-2 system	BioMerioux/Fransa
Microwave	Gosonic/Çin

Kimyasal malzemeler ve kitler

Çizelge 3.2, bu çalışmada kullanılan kitleri ve kimyasalları, üretici ve menşei ile birlikte listeler.

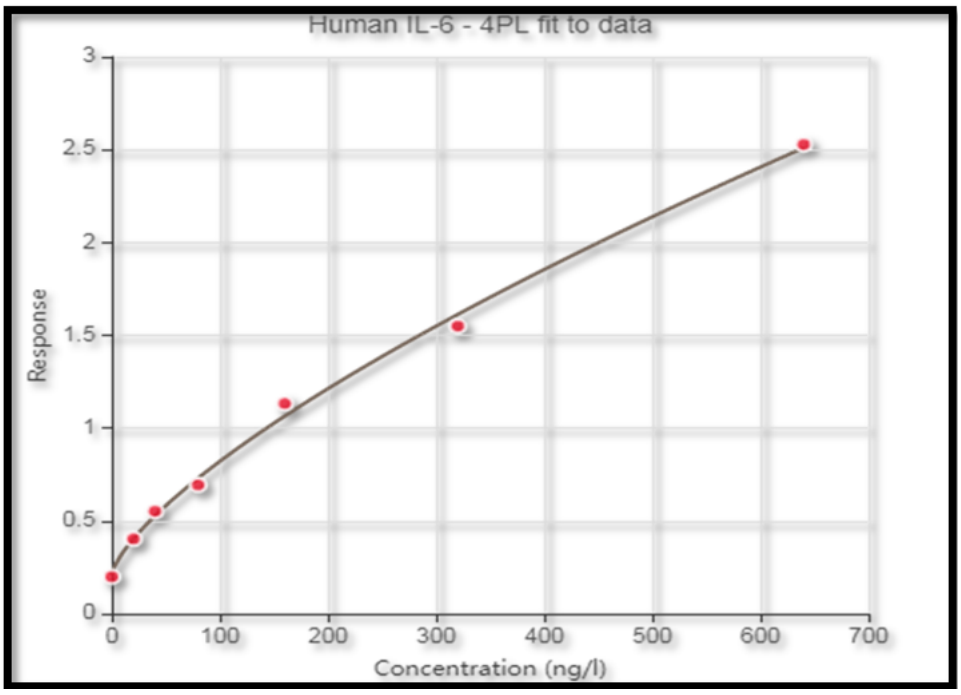
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve kitler

Kits	**Company/Origin**
Agarose	Conda/ABD
Red safe staining soulution	Intron/Kore
6X Loading dye	Intron/Kore
Ladder 100 bp	Intron/Kore
Pre mix per	Intron/Kore
TBE buffer 10X	Conda/ABD
Primer	Alpha DNA/ABD
G-spin DNA extraction kit	Intron/Kore
Nutrient agar	Quelab/Kanada
Blood agar	Quelab/Kanada
Columbia agar	Quelab/Kanada
Urea agar	Quelab/Kanada
MacConkey agar	Quelab/Kanada
Human Interleukin 6 ELISA Kit	BT lab/Kore
Human Interleukin 8 ELISA Kit	BT lab/Kore
Human Interleukin 10 ELISA Kit	BT lab/Kore
Human Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA kit	BT lab/Kore

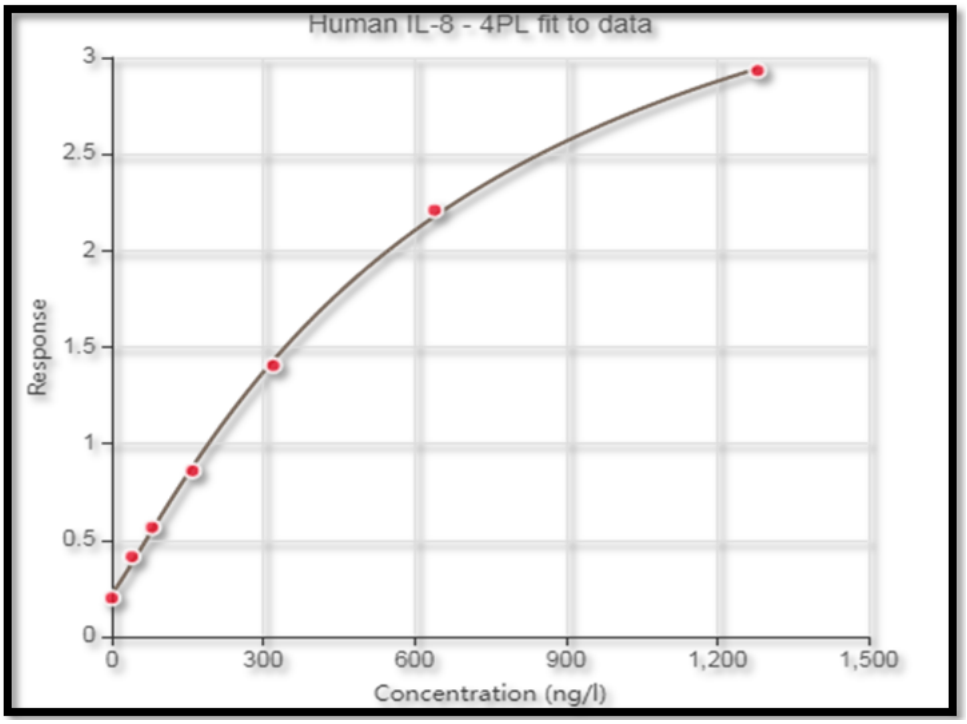
3.1.3 Enzim bağlantılı bağışıklık sorbent tahlili (ELISA) analizi

İnsan interlökinlerinin (IL-6,IL-8,IL-10 ve TNF-a) ölçümü

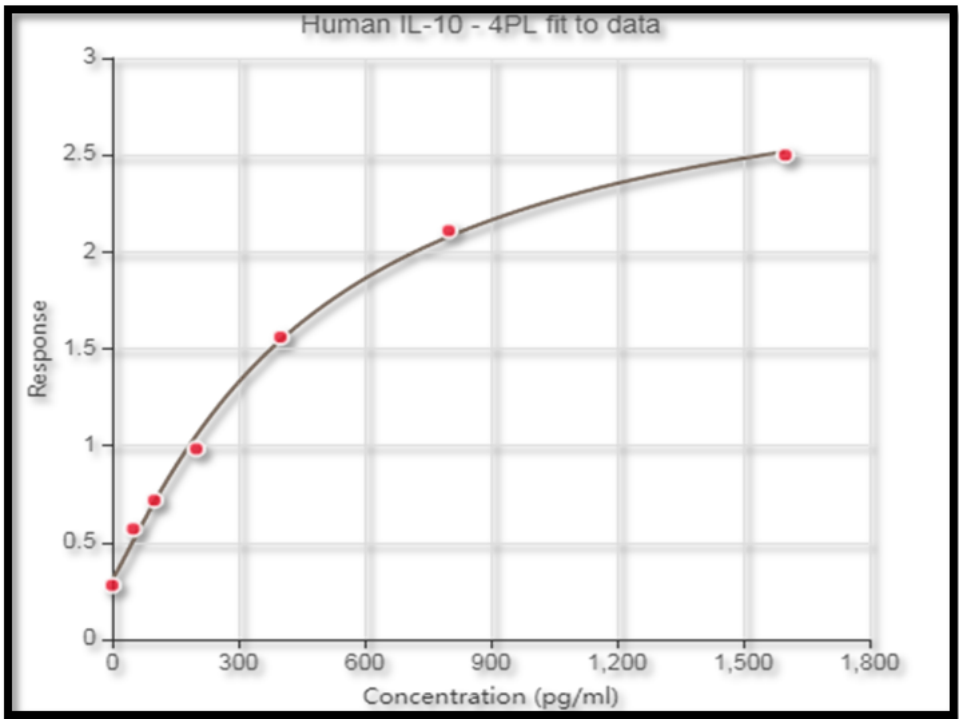
Serum numunelerindeki IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF-α konsantrasyonları, aşağıdakilere göre ELISA kitleri (sırasıyla BT LAB, Korain, Cat.No.E0090Hu, E0089Hu, E0102Hu ve E0082Hu) kullanılarak belirlenmiştir. Üreticinin talimatları, Üreticinin talimatları, Şekile 3.1, Şekile 3.2, Şekile 3.3 ve Şekile 3.4'de gösterildiği gibi, sitokin veya kemokin konsantrasyonu.



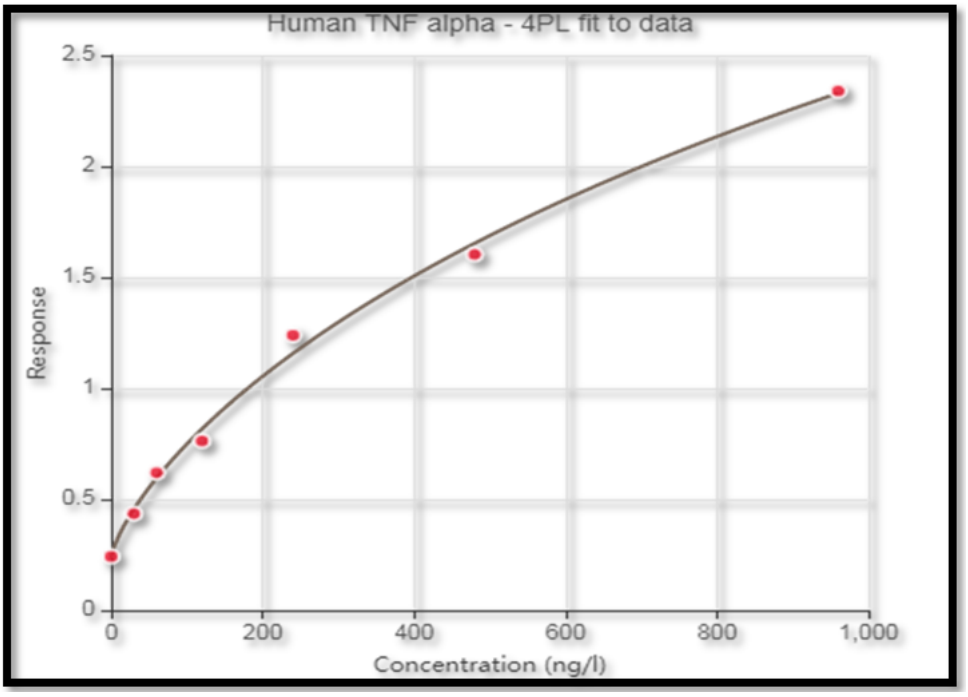
Şekil 3.1 IL-6 konsantrasyonunun belirlenmesi için standart eğri



Şekil 3.2 IL-8'in belirlenmesi için standart eğri



Şekil 3.3 IL-10'un belirlenmesi için standart eğri



Şekil 3.4 TNF-α'nın belirlenmesi için standart eğri

3.2 Metot

3.2.1 Medya hazırlığı

Beyin kalp İnfüzyon suyu (BHI)

3.7 g BHI tozu, 100 mL D.W'ye ilave edilmiş ve daha sonra 121°C'de bir otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir (Jamshidi *et al.* 2014).

Columbia ağarı

42 g toz 1 L suya ilave edilmiş ve daha sonra 121°C'de bir otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir (Esteves *et al.* 2022).

Kan ağarı

20 g toz 5 mL su ile karıştırılıp 121°C'de otoklavda 15 dakika sterilize edildikten sonra 10 mL insan kanı ile karıştırılarak transplantasyona hazır hale getirilmiştir.

3.2.2 *H. pylori*'nin tanımlanması

İzolatlar, Columbia agar, Kan agar, Macconcy plakaları üzerinde 3 gün boyunca 37°C'de nemlendirilmiş bir CO_2 inkübatöründe büyütülmüştür. *H. pylori*, (1-2) mm çapında belirgin bir su damlası benzeri koloni olarak ortaya çıkmıştır.

Mikroskobik inceleme

Tüm örnekler mikroskobik inceleme için Al-Sadder Hastanesi-Miysan Şehri'ndeki bakteriyolojik Laboratuvarlarda işlenmiş ve yürütülmüştür.

Islak montaj tekniği

Numuneler daha sonra BHI besiyeri ortamına yerleştirilmiş, laboratuvara taşınmış ve hazırlanan kayar kapaklı yakma fırınına bir veya iki damla normal salin damlatılarak mikroskobik olarak analiz edilmiştir. Islak fiksasyon tekniğinin amacı, peptik ülserlere ve bağırsak kanserine neden olan zararlı mikroorganizmaları tespit etmektir (Rhody *et al.* 2013).

Gram boyama

Tüm biyopsi ve dışkı örnekleri, (100x) büyütme altında incelenmeden önce Gram boyama ile onarılmış ve boyanmıştır. Bir gram boyama kullanılarak bakteri çubuklarının kavisli formu tespit edilmiştir.

Giemsa'nın hazırlanması

100 mL metanol içinde çözülmüş 0,75 g Giemsa tozu stoğu Giemsa lekelerinin çalışma solüsyonu 1 kısım Giemsa solüsyonu ve dokuz kısım damıtılmış su alıyoruz. Bakteri kolonisinden bir sürüntü aldık ve slaytlar üzerinde bir dakika boyunca suya dereceli alkol ile nemlendirdik, ardından 5 dakika boyunca Giemsa boyası ile sürdük ve DPX'e sabitlenmiş musluk suyu ile yıkadık ve mikroskobik olarak inceledik.

3.2.3 Biyokimyasal yöntemler

Üreaz Testi

Üreaz testi, saf izolatların çok sayıda aşılanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Üre agarın tüm yüzeyini delmek için halka şeklinde bir tel kullanılmıştır. Bir inkübatörde tüpler 37°C'de enfekte edilmiştir. Aşılamadan dört saat sonra mor oluşum incelendi. Sonuç olarak, üre ortamda pembemsi bir renk üretir.

Oksidaz testi

Bir filtre kağıdı yaprağına iki ila üç damla Tetrametil-p-enilendiamin dihidroklorür (%10) bırakıldı. Bir slaytın kenarını kullanarak, kültürün bir kısmı alındı ve emprenye edilmiş kağıdın yüzeyine bulaştı. On saniye içinde koyu mor bir rengin oluşmasıyla iyi bir reaksiyon gösterildi.

Katalaz testi

Katalaz, hidrojen peroksitin oksijen ve suya parçalanmasına yardımcı olan bir enzimdir. Bakteriyolojik öze dolusu veya steril bir tahta çubuk kullanarak temiz, kuru bir cam slaytın yüzeyine az miktarda koloni büyümesi aktarın. Örneğin inokuluma (%3) bir damla hidrojen peroksit (H_2O_2) uygulayın. Oksijen kabarcıklarının oluşumuna dikkat edin. Katalaz *H.pylori* üreten pozitif organizmalar bir bakteri cinsidir.

3.2.4 Vitek-2 kompakt sistem (Kat.no.)

Otomatik yöntemler, bakteri tanımlama yöntemleri arasında en hızlı ve en doğru olanıdır. Vitek2 sistemi, 30 kuyunun her birinde mikrolitre hacimlerde çeşitli biyokimyasal test ortamlarına sahip plastik reaktif kartlarından oluşur ve bu, organizmaları teşhis etmek için kullanılabilecek bir biyokimyasal profil ile sonuçlanır. Veriler analiz edildi, kaydedildi ve bilgisayarlı bir veri tabanında yazdırıldı; Gram negatif ve Gram pozitif kimlik kartları gibi diğer kart türleri de mevcuttur (Poirel *et al.* 2017).

3.2.5 Moleküler biyolojik çalışmalar

Biyopsiden bakteri DNA ekstraksiyonu

Protokol

1. Ağırlıklı 25 mg biyopsi alındıktan sonra 1,5 mL'lik tüpe aktarın.

2. Bir numune tüpünde 200 µL Buffer CL, 20µL Proteinase K ve 5µL RNase Solution'ı kuvvetlice karıştırın ve 56°C'de 30 dakika inkübe edin, ardından üst numune tüpüne 200 µL Buffer BL ekleyin ve tamamen karıştırın. Ardından, 70°C'de 5 dakika boyunca karışımı inkübe edin.
3. Örnek tüpünü 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüjleyin. 400 L süpernatantı dikkatli bir şekilde yeni 1,5 mL'lik bir tüpe aktarın.
4. Lizata 200 µL mutlak etanol eklendi.
5. Adım 4'teki karışımı 2 mL'lik Toplama Tüpüne dikkatlice dökün ve 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüjleyin. Filtrat atılmalıdır.
6. Döndürme kolonuna 700 µL WA Tamponu eklendi ve 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlendi ve 700 µL Tampon WB eklendi ve 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlendi.
7. 70 µL Tampon CE eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edin ve ardından ayrıştırmak için 13,000 rpm'de 1 dakika santrifüjleyin.

DNA kalitesini analiz etmek için jel elektroforezi

- 1 g agaroz tozunun 100 mL'lik balonda 100 mL 1x TBE içinde çözülmesiyle hazırlandı, agaroz sıcak blokta çözelti berraklaşıncaya kadar eritildi ve yaklaşık olarak (50-550°C) kadar soğutuldu, şişe ara sıra döndürülerek eşit bir şekilde soğumaya bırakıldı.
- Sıcak jele kırmızı leke (3 µL) ilave edildi ve ardından döküm tepsisinin uçları iki kat bantla kapatıldı.
- Döküm tepsisine eritilmiş agaroz solüsyonu döküldü. Jel döküm tepsisine taraklar yerleştirildi. Agarozun ortam sıcaklığında sertleşmesine izin verildikten sonra, tarak dikkatlice dışarı çekildi ve bant çıkarıldı. Jel içine yerleştirildiğinde elektroforez odası TBE (1x) tamponu ile dolduruldu.
- Beş µL DNA numunesi üç µL DNA yükleme tamponu ile birleştirildi ve agaroz jel kuyucuklarına yerleştirildi. Agaroz jel elektroforezi, 70V, 65Amp'de 1 saat boyunca gerçekleştirildi. DNA, bir UV Transillüminatör kullanılarak incelendi.

Primerlerin hazırlanması

10 pmol/µL konsantrasyonunu iş primeri süspanse olarak hazırlamak için, 100 µL nihai hacme ulaşmak için 90 µL serbest ddH_2O su içinde 10 µL stok solüsyonu (Alpha DNA/USA) tarafından araştırıldı.

Çalışmada kullanılan primerler

Tüm primerler, hedef geni içerir ve endojen gen, 10 pmol konsantrasyonunda hazırlanmıştır. (Çizelge 3.3), (Çizelge 3.4), (Çizelge 3.5), (Çizelge 3.6)

Çizelge 3.3 Bu çalışmayı kullanan primerlerin dizisi

Primer dizisi	Primer	Genler	Tm (°C)	GC %	Ürün boyutu	Referans
GACGATTGAGCGATGGGAATAT	İleri	*dup A*	60,2	52,2	971bp	Jung *et al.* 2012
CTGAGAAGCCTTATTATCTTGTTGG	Geri		60,4	50		
ATGGAAATACAACAAACACAC	İleri	*VacA*	60,2	50	286bp	Harrison *et al.* 2017
CTGCTTGAATGCGCCAAAC	Geri		61,2	50		
AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	İleri	*16s RNA*	54,3	50,0	1250	Srinivasan *et al.* 2015
GGTTACCTTGTTACGACTT	Geri		49,4	42,1		

Çizelge 3.4 Maxime PCR PreMix kitinin Bileşenleri (i-Taq)

Bileşik	Reaksiyon boyutu 20µL
i-Taq TM DNA Polimeraz (5U µL)	2,5 U
dNTPs	2,5 mM her biri
Reaksiyon tamponu (10x)	1x
Jel yükleme tamponu	1x

Çizelge 3.5 PCR'nin reaksiyon bileşenleri

Bileşik	Reaksiyon boyutu 20µL
Taq PCR	5 µL
İleri Astar	10 pikomol / µL
Ters astar	10 pikomol / µL
DNA	1,5 µL
Damıtılmış su	16,5 µL

Çizelge 3.6 16Srna, *dupA* ve *VacA* geninin PCR Bisiklet Programı

Adım	Hava sıcaklığı	Zaman	Döngüler
Enzim aktivasyonu	95ºC	2 Dakika	1
denatürasyon	95ºC	45 Saniye	35
Tavlama	58ºC	45 Saniye	
Uzantı	72ºC	45 Saniye	
Son uzatma	72ºC	7 Dakika	1

PCR ürününden sonra agaroz jel elektroforezi daha sonra 8V/cm'de kırmızı güvenli %1,5 agaroz kullanılarak denizaltı jel elektroforezi ile analiz edildi ve reaksiyon ürünü Gel doc/UV trans-illuminator altında görüntülendi.

3.3 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, SPSS'nin 20.0 bilgisayar yazılımı sürümü kullanılarak pencereler için gerçekleştirilmiştir. Veriler, SPSS yazılımı tanımlayıcı istatistikleri ve Excel 2016 kullanılarak analiz edilmiştir.

4 BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Çalışma Örneğinin Tanımı

Bu çalışma Şubat 2022'den Nisan 2022'ye kadar yürütülmüştür. Çalışma süresi boyunca Mysan kentindeki hastanelerden mide ülseri ve mide malignitesi hastaları için 150 örnek toplanmıştır.

4.2 Dağılım Yaş (Yıl) Grubu ve Cinsiyet

Spesifik davranışsal Değişkenler ile mide ülseri ve mide kanserini tahmin etme riski arasında iyi bir ilişki kurmak için oldukça sertifikalı bir anket oluşturulmuştur. Bu amaçla 103 Irak vatandaşından oluşan bir örneklem büyüklüğü seçilmiştir. Yüz üç anket dağıtıldı ve geri döndü, hepsi tamamlandı. Çizelge 4.1, ankete katılanların (hastaların) sayısını ve cinsiyetini özetlemektedir. Tüm veriler analiz edildi ve Çizelge 4.1'de gösterildi.

Yaş 8 kategoriye ayrıldığında en yüksek yüzde yaş grubunda (40-49) (%33) ve en düşük yüzde (10-19) yaş grubunda (%4,9) ortaya çıkarken, cinsiyete göre Katılımcıların erkeklerin yüzdesi (%51,5) kadınların yüzdesinden (%49,5) daha yüksekti, anket sonuçları eğitim düzeyi ne kadar düşükse hastalık insidansının o kadar yüksek olduğunu gösterdi (%53,39), ve şehir nüfusundaki hasta oranının kırsal nüfusa göre (%77,66) (%22,33) daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.1 Anne eğitimi ve yurtlara göre dağılım yaş (yıl) grubu ve cinsiyet

Değişken	Sıklık	%	P-Değeri
Yaş (Yıl)			
10 – 19	4	4,9	0,00
20 – 29	5	7,8	
30 – 39	12	11,7	
40 – 49	34	33	
50 – 59	20	19,4	
60 – 69	10	9,7	
70 - 79	8	7,8	
≥ 80	6	5,9	
Total	103	100%	
Seks			

Erkek	53	51,5	
Dişi	50	48,5	
Toplam	103	100%	
Eğitim			
İlkokul	55	53,39	
Orta okul	36	34,95	
yüksek okul	12	11,65	
Toplam	103	100%	
Konut			
Şehir	80	77,66	
Kırsal	23	22,33	
Toplam	103	100%	

Ortalama tanı ve ölüm yaşı sırasıyla 69 ve 72 olan GC insidansı yaşla birlikte artar, *HP*, dünya nüfusunun yaklaşık yarısını enfekte eden en sık görülen bakteriyel mide hastalıklarından biridir (Bagheri *et al.* 2018). Yaş, ırk/ etnik köken ve sosyoekonomik durumun (SES) tümünün yaygınlık tahminleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Daha büyük yaş gruplarında daha yüksek insidans oranları, daha kötü erken yaşam koşullarının neden olduğu bir kohort etkisinden kaynaklanıyor olabilir (Beydoun *et al.* 2018).

Nüfus araştırmalarına göre, dünya nüfusunun yaklaşık yarısı *HP* ile enfekte. Ayrıca, *HP* enfeksiyonlarının çoğu çocukluk döneminde edinilmiş gibi görünmektedir ve tahminler, çocuk popülasyonunun üçte birinin etkilendiğini veya enfekte olacağını göstermektedir (Curado *et al.* 2019).

HP ile enfeksiyon, peptik ülser ve mide kanserinin (GC) gelişimi ile bağlantılıdır ve patojenin virülans bileşenleri ile konakçı bağışıklık tepkisi arasındaki etkileşimler, bu hastalıkların ilerlemesinde kritik öneme sahip görünmektedir (Chmiela *et al.* 2017).

Çalışmalara göre, *H. pylori* ile enfekte olan kişilerin %10'unda peptik ülser gelişir ve %1 ila %3'ünde GC gelişir (Li *et al.* 2017). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'na (IARC) göre, *H. pylori*, tüm mide kanserlerinin yüzde 89'undan sorumlu olan bir Grup I kanserojendir. Enfeksiyon prevalansı, barınma ve yaşam koşullarının yanı sıra yaş, cinsiyet ve sosyoekonomik düzey ile bağlantılıdır. Aynı coğrafi konumdaki Yerli olmayan topluluklarla karşılaştırıldığında, Güney Amerika, Kanada ve Alaska'daki yerli

kabilelerin hepsinin daha fazla *H. pylori* enfeksiyonu yüküne sahip olduğu bulunmuştur (Venerito *et al.* 2016).

Hem UBT hem de serum örneklerini kullanmak için, çoğunlukla kırsal Alaska'lıların (n = 710) büyük bir araştırması, iki test arasında yüksek uyum olduğunu ve *H. pylori* prevalansının sırasıyla yüzde 69 ve yüzde 68 olduğunu ortaya koymuştur (Ciccaglione *et al.* 2016).

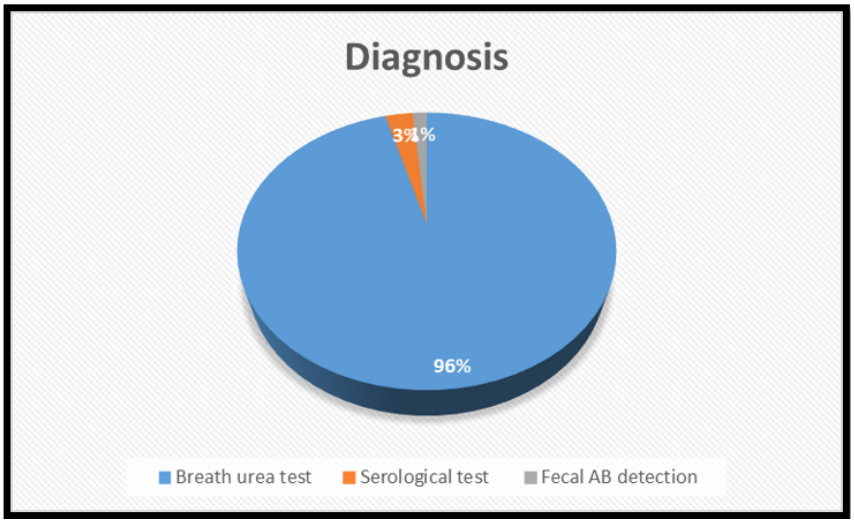
Kadınlarla karşılaştırıldığında, erkeklerin UBT testinin pozitif çıkma şansı 3,26 kat daha fazlaydı. Yetişkin erkek *H. pylori* enfeksiyonu prevalansının iki meta-analizini içeren diğer araştırmalar (Harris *et al.* 2022), daha güçlü bir cinsiyet korelasyonu olduğunu göstermiştir. Öte yandan, tüm ırk/etnik köken gruplarında erkekler, karsinom söz konusu olduğunda kadınlardan daha yüksek bir enfeksiyon sıklığına ve ölüm oranına sahiptir. Önceki araştırmaların aksine, bu çalışma, daha düşük eğitim ve yaşın, artan aktif enfeksiyon prevalansı veya riski ile bağlantılı olmadığını bulmuştur (Farmanfarma *et al.* 2020).

4.3 Teşhis Yöntemleri

UBT, ST ve FABD için Ortalama ± S.D, Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterildiği gibi sırasıyla 69,4911,908, 2,0391,341 ve 1,060,239 idi.

Çizelge 4.2 *H. pylori* enfeksiyonu tanı teknikleri

Tanı Yöntemleri	**Ortalama ± SD**
Üre Nefes testi (UBT)	69,49 ± 11,908
Serolojik test (ST)	2,039 ± 1,341
Fekal AB tespiti (FABD)	1,06 ± 0,239



Şekil 4.1 Tanılama tekniklerine göre HP enfeksiyonu yüzdesi

H. pylori enfeksiyon tedavilerinin gelişmesiyle birlikte teşhis teknolojileri de genişlemiştir. Buna rağmen, özellikle risk altındaki popülasyonlarda kullanıma yönelik geleneksel yöntemler hala eksiktir. Bu yaklaşımlar, doğruluk, duyarlılık ve özgüllük gibi geleneksel klinik tanı standartlarını karşılamalıdır. Stratejiler, yetersiz sanitasyon ve tıbbi hizmetlere sahip gelişmemiş ülkelerde de çalışmalıdır (Sabbagh *et al.* 2019).

Bu yaklaşımlarda bakteriyel enzimlerin, antijenlerin, antikorların veya DNA dizilerinin varlığı kullanılır. 13C veya 14C üre nefes testi, dışkı antijen testi (SAT), seroloji ve moleküler teknikler bunlardan bazılarıdır (Kotilea *et al.* 2019).

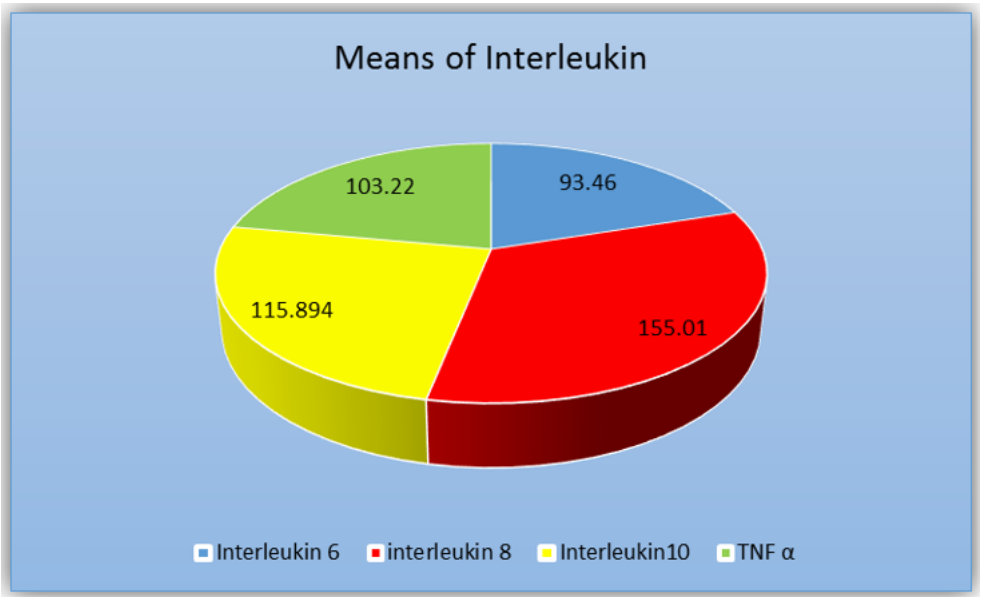
Bu yaklaşımın, %95,9 duyarlılık ve yüzde 95,7 özgüllük ile noninvaziv, güvenli ve doğru olması da dahil olmak üzere birçok avantajı vardır. IgA, IgG ve IgM antikorları için daha fazla test olmasına rağmen, yalnızca IgG antikor testi güvenilirdir. Bu testlerde serum, tükürük veya idrar kullanımı yaygındır; yine de tam kanın kullanımı hala tartışmalıdır. Bu yaklaşımın duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla yüzde 76-84 ve yüzde 79-90'dır (Yadav *et al.* 2021).

İdrar numunelerinin serolojik testi, numune toplama becerilerini veya santrifüjleme gibi hazırlama adımlarını içermediğinden, serum numunelerinin serolojik testlerinden önemli ölçüde daha kolaydır. İdrar bazlı ELISA yaklaşımı ise sınırlı özgüllüğü (%76,4) nedeniyle

gençler için uygun bulunmamıştır. Düşük miktarda anti-H. idrardaki pilori antikorları düşük özgüllüğü açıklayabilir (Sabbagh *et al.* 2019).

4.4 *Helicobacter pylori* ve sitokinler

Çalışmamızda *Hp* enfeksiyonu olan Iraklı hastalarda dolaşımdaki IL-6, IL-8.IL-10 ve TNF-α düzeylerini araştırdık. Sonuçlar Şekil 4.2'de görüldüğü gibi sırasıyla Ortalama ± SD 93,46 ± 48,37, 155,01 ± 130,22, 115,894 ± 42,488 ve 103,22 ± 34,706 göstermiştir.



Şekil 4.2 *H. pylori* enfeksiyonunda dağılım sitokinleri

Bu çalışmada, sitokin düzeylerini inceledik ve *Hp* ile enfeksiyonun, IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF-a gibi birçok mukozal proinflamatuar ve immün düzenleyici sitokinlerde artışa yol açtığını biliyoruz. Bulgularımızla örtüşen TNF-α seviyeleri, ancak *Hp* ile enfekte kişilerde serum IL-8 seviyeleri normal kalıyor, bu da bizim bulgularımız ile çelişiyor (Bayraktaroğlu *et al.* 2004).

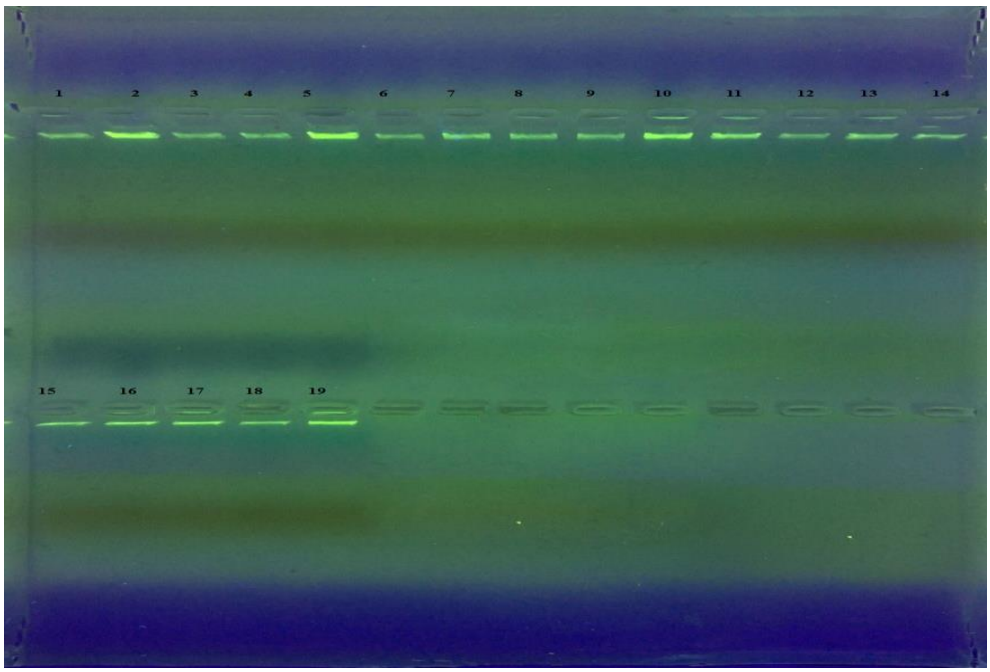
Abdulla ve arkadaşları tarafından yürütülen araştırma, tüm mide kanseri vakalarının *Hp* IL-10 olduğunu, bağışıklık tepkisini bir Th2 hücre tepkisine ayarlayan kritik bir bağışıklık bastırıcı sitokin olduğunu bulmuştur (Abdulla *et al.* 2012).

IL-10 genotiplerinin (tek nükleotid polimorfizmi) Mide Kanserleri ile bağlantısı fizyolojik ve terapötik olarak önemli göründüğü için, IL10 serum seviyesi önemli ölçüde artmıştır (Chauhan *et al.* 2019).

Yüksek motiliteye sahip *HP* suşlarının IL-8 salınımında artışa neden olduğu bulunmuştur. *VacA*'nın ayrıca immünolojik hücreler üzerinde önemli bir etkisi vardır, T ve B hücresi aktivasyonunu ve proliferasyonunu azaltmanın yanı sıra makrofaj ölümünü tetikleyerek, esas olarak IFN sinyalinin baskılanması yoluyla; *VacA* ayrıca aşırı IL-8 salgılanmasının oluşumunda rol oynar. *HP* pozitif çocuklarda TNF, IL-1, IL-1, IL-6, IL-2 ve IL-17A gibi proinflamatuar sitokinlerin *HP* negatif yenidoğanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Araújo *et al.* 2022).

4.5 Moleküler Çalışma

Doğrudan mide ülseri (GU) ve mide kanseri (GC) ile ilişkili *H. pylori*'yi incelemek için DNA ekstraksiyon işlemi uygulandı. Şekil 4.3 de görüldüğü gibi.



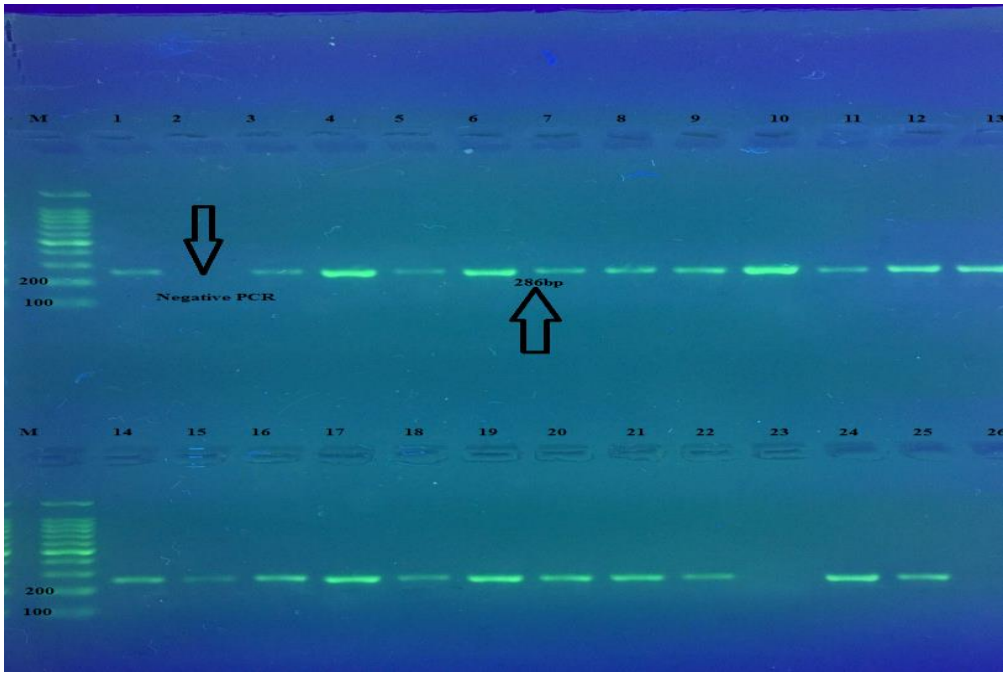
Şekil 4.3 *H. pylori*'den izole edilen genomik DNA'nın jel elektroforezi

4.5.1 16SrRNA, *VacA* ve *dupA* genleri ile *HP* tespiti

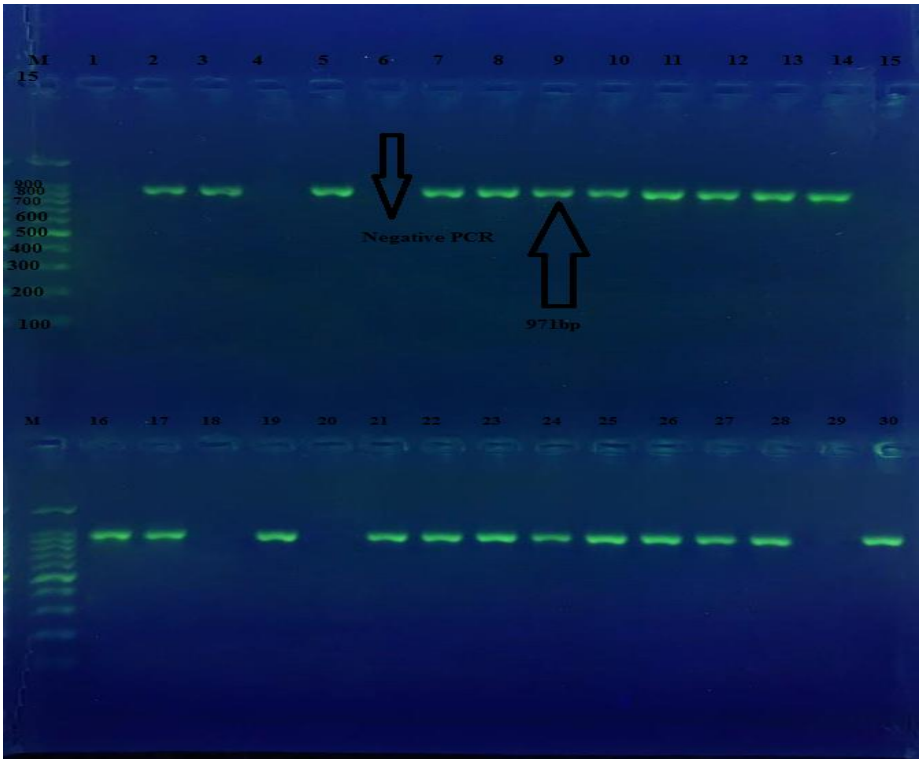
Sırasıyla Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te gösterildiği gibi *VacA* ve *dupA* genleri kullanılarak biyopsilerde *HP*'yi saptamak için PCR kullanılmıştır. Bulgular, biyopsilerin 41'inin (%80,3) *VacA* ve *dupA* genleri için pozitif, 10'unun (%19,6) negatif ve 43'ünün (%84,3) 16SrRNA için pozitif test ederken, 8'inin (%15,6) negatif çıktığını ortaya koymuştur. Çizelge 4.3 belirtildiği gibi.

Çizelge 4.3 *H. pylori'*de *VacA* ve *dupA* genlerinin tespiti

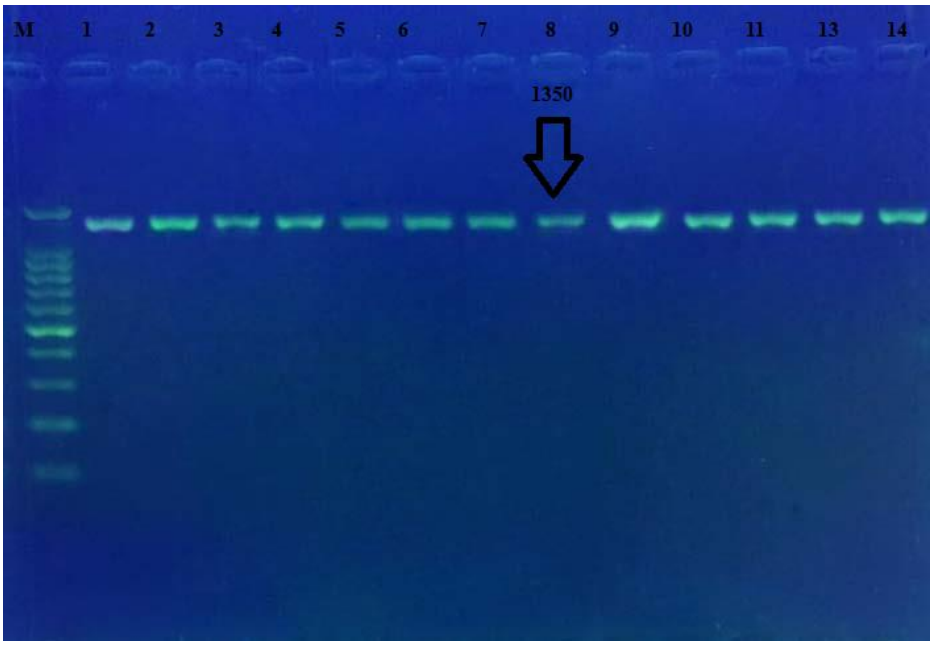
Genler	**Pozitif (%) (%)**	**Olumsuz %**
16SrRNA	43 (84,3 %)	8 (15,6%)
Vac A	41 (80,3 %)	10 (19,6 %)
Dup A	10 (19,6 %)	41 (80,3)



Şekil 4.4 Amplifiye edilmiş *VacA*'nın (286bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi



Şekil 4.5 Amplifiye edilmiş *dupA*'nın (971bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi



Şekil 4.6 Amplifiye edilmiş 16Srna'nın (1410 bp) kırmızı lekeli %2,0 Agaroz jel elektroforezi

Bir oto taşıyıcı, *VacA* geni tarafından üretilen gözenek oluşturucu bir toksin salgılar. Toksijenik etkisi, ökaryotik hücrelerde lipid sfingomyelin reseptörüne bağlanarak elde edilir. Gen, spesifik olarak mitokondriyi hedef alır, ölüme ve büyük hücre içi vakuollerin oluşumuna neden olmaktadır (Chauhan *et al.* 2019).

VacA, Mısır'da Kishk ve diğerleri tarafından yürütülen bir çalışmada 60 *HP* suşunun yüzde 61,6'sında bulundu. Kübalı hastalar üzerinde yakın zamanda yapılan bir araştırma, incelenen *HP* suşlarının yüzde 61,6'sında *VacA* genini buldu ve bu, bunun suşların çoğunda baskın öldürücü gen olduğunu göstermektedir (Abu-Lubad *et al.* 2018).

HP'nin önemli coğrafi değişkenliği nedeniyle, belirli genotipler, bazı alanlarda daha az zararlı veya hatta zararsız varyantlar olarak sunulurken, belirli alanlarda ciddi klinik sonuçlara bağlanabilir. Araştırmalar arasında *HP* virülans genlerinde gözlenen farklılıklar, tesislerdeki farklılıklar veya PCR teknolojilerinin sınırları ile ilgili olabilir (Bakhti *et al.* 2020)

Irak topluluklarında *H. pylori* virülans değişkenlerinin araştırılması, hastalık riskinde rol oynadıkları için çok önemlidir (Yahya 2018). Daha önceki bir Irak araştırması, *vacA* i1 ve GU arasında önemli bir bağlantı bulmuştu, ancak DU'yu bulamamıştır (El Khadir *et al.* 2017).

(Baj *et al.* 2020) bulgularına göre, GU ve mide kanseri arasındaki epidemiyolojik benzerlikler göz önüne alındığında, Irak örneklerinde *vacA* i1 suşlarının varlığı ile mide ülseri arasında yeni bir bağlantı keşfedilmiştir. Bu çalışmaya yalnızca az sayıda GU hastası dahil edildiğinden, bulguların ek gruplarda doğrulanması gerekmektedir (Baj *et al.* 2020).

DupA iki türe ayrıldı: işlevsel *dupA1* ve işlevsel olmayan *dupA2* [ORF'nin bir durdurma kodonu tarafından bozulduğu daha önce açıklanan sürüm dahil]. Bunun gibi bir sınıflandırma, bazı sonuçların neden çelişkili olduğunu açıklamaya yardımcı olmaktadır. Ayrıca, yakın tarihli bir çalışma, *dupA* durumu ile *HP* eradikasyon başarısızlığı arasında

bir bağlantı bulmuştur. Bu raporda, *dupA*'nın bu bakterilerin yok edilmesini nasıl engelleyebileceğine dair hiçbir açıklama yapılmamıştır (Šterbenc *et al.* 2019).

Bazı yazarlar, duodenal ülseri teşvik eden genin (*dupA*) peptik ülserler için bir belirteç olduğunu öne sürmüş, ancak araştırmamızda herhangi bir bağlantı bulamadık. Belçika, Güney Afrika, Çin ve Kuzey Amerika'daki bazı araştırmacılar, *dupA*'yı duodenum ülserasyonunun bir göstergesi olarak kabul edemezken, Kuzey Irak'ta daha düşük *dupA* prevalansı (%18,8) kaydedilmiştir ve İran'da (Idowu *et al.* 2019) %39'a varan yüksek bir oran, bizim bulgularımız ile uyumludur.

dupA durumunda, Irak nüfusu arasında PUD ile güçlü bir korelasyon keşfedildi, bu da bizim bulgularımızla çelişirken İranlılarda böyle bir bağlantı bulunamamıştır (Alam *et al.* 2020). *DupA* ayrıca daha yüksek bir *HP* eradikasyon hatası oranıyla bağlantılıdır (Karbalaei *et al.* 2021).

Ayrıca *HP* ile ilişkili gastrointestinal hastalıklar için tanısal bir belirteç olduğu düşünülmektedir; şimdiye kadar, erken durdurma kodonları olmayan *dupa* geni veya *HP DupA*'nın 112-bp bölümü seçenekler olarak önerilmiştir (Abadi and Perez-Perez 2016).

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuç

1. Üre nefes testi %96 oolarak kaydedilmiştir, ülser hastalarında *H. pylori*'nin saptanması için en yaygın yöntemdir.
2. 16rRNA tanı geni olarak 43 (%84,3) pozitif sonuç ve 8 (15,6) negatif sonuç olarak bulunmuştur.
3. İnterlökin 8, tüm mide ülseri hastalarında sitokinlerden daha fazla yükselen, daha yaygın bir sitokindir.
4. Vac geninin *H. pylori*'de daha spesifik bir virülans geni olduğu 41 (%80,3) *dupA* geninden kaydedilmiştir.

5.2 Öneri

- Mide ülseri hastalarında *H. pylori* ile ilişkili diğer patojenik bakterileri inceleyin.
- Mide ülseri hastalarında diğer sitokinler ile *H. pylori* arasındaki ilişki 1212.
- Mide dokusunda ve mide dokusundaki değişikliklerle ilgili histolojik çalışma.
- Kirli su ve gıdalardan *H. pylori* izolasyonu ve virülans faktörlerinin incelenmesi

KAYNAKLAR

Abadi, A. T. and Perez-Perez, G. 2016. Role of dupA in virulence of Helicobacter pylori. World Journal of Gastroenterology, 22(46): 10118.

Abdulla, A. R., Ali, A. H. M., Al-Rawaq, K. J. and Ibraheem, A. N. 2012. IL-10 serum level estimation in Iraqi colorectal and gastric cancer patients. Journal of the Faculty of Medicine Baghdad, 54(2): 167-171.

AbuElghait, D., Mohamed, K. F., Sheta, E., Abdelmoein, K., AbdElkader, N., Zaher, H. and Samir, A. 2019. Detection of Helicobacter equorum in Equine in Egypt. Veterinary Medical Journal (Giza), 65(1): 38-47.

Abu-Lubad, M., Alzoubi, H., Jarajreh, D. A., Al Sawalqa, A., Bruggemann, H., Albataineh, E. and Al-Zeer, M. 2018. Analysis of Helicobacter pylori Genotypes Amongst Jordanians' Dental Plaque Samples. Gastroenterology Research, 11(1): 46.

Alam, J., Sarkar, A., Karmakar, B. C., Ganguly, M., Paul, S. and Mukhopadhyay, A. K. 2020. Novel virulence factor dupA of Helicobacter pylori as an important risk determinant for disease manifestation: An overview. World Journal of Gastroenterology, 26(32): 4739.

Alam, M. R., Ahmed, E. U., Rahman, M. Z., Islam, A. N., Khan, M. M. R., Ahmed, D. S. and Raihan, A. S. 2014. A study on healing of peptic ulcer disease after eradication of Helicobacter pylori infection. Bangladesh Medical Journal, 43(2): 84-89.

Ali, S., Akhter, S., Neubauer, H., Melzer, F., Khan, I., Abatih, E. N. and Ahmed, H. 2017. Seroprevalence and risk factors associated with bovine brucellosis in the Potohar Plateau, Pakistan. BMC Research Notes, 10(1): 1-11.

Araújo, G. R. L., Marques, H. S., Santos, M. L. C., da Silva, F. A. F., da Brito, B. B., Santos, G. L. C. and de Melo, F. F. 2022. Helicobacter pylori infection: How does age influence the inflammatory pattern. World Journal of Gastroenterology, 28(4): 402.

Aziz, F., Xin, M., Gao, Y., Chakroborty, A., Khan, I., Monts, J. and Dong, Z. 2020. Induction and prevention of gastric cancer with combined Helicobacter pylori and capsaicin administration and DFMO treatment, respectively. Cancers, 12(4): 816.

Bagheri, N., Salimzadeh, L. and Shirzad, H. 2018. The role of T helper 1-cell response in Helicobacter pylori-infection. Microbial Pathogenesis, 123: 1-8.

Baj, J., Forma, A., Sitarz, M., Portincasa, P., Garruti, G., Krasowska, D. and Maciejewski, R. 2020. Helicobacter pylori virulence factors mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. Cells, 10(1): 27.

Bakhti, S. Z., Latifi-Navid, S. and Safaralizadeh, R. 2020. Helicobacter pylori-related risk predictors of gastric cancer: The latest models, challenges, and future prospects. Cancer Medicine, 9(13): 4808-4822.

Bayraktaroğlu, T., Aras, A. Ş., Aydemir, S., Davutoğlu, C., Üstündağ, Y., Atmaca, H. and Borazan, A. 2004. Serum levels of tumor necrosis factor-α, interleukin-6 and interleukin-8 are not increased in dyspeptic patients with Helicobacter pylori-associated gastritis. Mediators of İnflammation, 13(1): 25-28.

Beydoun, M. A., Beydoun, H. A., Elbejjani, M., Dore, G. A. and Zonderman, A. B. 2018. Helicobacter pylori seropositivity and its association with incident all-cause and Alzheimer's disease dementia in large national surveys. Alzheimer's and Dementia, 14(9): 1148-1158.

Chauhan, N., Tay, A. C. Y., Marshall, B. J. and Jain, U. 2019. Helicobacter pylori VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview. Helicobacter, 24(1): e12544.

Chmiela, M., Karwowska, Z., Gonciarz, W., Allushi, B. and Stączek, P. 2017. Host pathogen interactions in Helicobacter pylori related gastric cancer. World Journal of Gastroenterology, 23(9): 1521.

Chowdhury, A. T., He, S., Wang, R. H., Guo, D. and Li, Y. 2019. A Review of Gastric Polyps. Journal of Digestive Endoscopy, 10(02): 090-096.

Ciccaglione, A. F., Tavani, R., Grossi, L., Cellini, L., Manzoli, L. and Marzio, L. 2016. Rifabutin containing triple therapy and rifabutin with bismuth containing quadruple therapy for third-line treatment of Helicobacter pylori infection: two pilot studies. Helicobacter, 21(5): 375-381.

Curado, M. P., de Oliveira, M. M. and de Araújo Fagundes, M. 2019. Prevalence of Helicobacter pylori infection in Latin America and the Caribbean populations: A systematic review and meta-analysis. Cancer Epidemiology, 60: 141-148.

De Vries, A. C., Van Driel, H. F., Richardus, J. H., Ouwendijk, M., Van Vuuren, A. J., De Man, R. A. and Kuipers, E. J. 2008. Migrant communities constitute a possible target population for primary prevention of Helicobacter pylori-related complications in low incidence countries. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 43(4): 403-409.

El Khadir, M., Alaoui Boukhris, S., Benajah, D. A., El Rhazi, K., Ibrahimi, S. A., El Abkari, M. and Bennani, B. 2017. VacA and CagA status as biomarker of two opposite end outcomes of Helicobacter pylori infection (gastric Cancer and duodenal ulcer) in a Moroccan population. PloS One, 12(1): e0170616.

Esteves, E., Koolman, L., Whyte, P., Gupta, T. B. and Bolton, D. 2022. An Evaluation of Sporicidal Treatments against Blown Pack Spoilage Associated Clostridium estertheticum and Clostridium gasigenes Spores. Applied Sciences, 12(3): 1663.

Ewald, D. R. and Sumner, S. C. 2018. Human microbiota, blood group antigens, and disease. Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine, 10(3): e1413.

Farmanfarma, K. K., Mahdavifar, N., Hassanipour, S. and Salehiniya, H. 2020. Epidemiologic study of gastric cancer in iran: a systematic review. Clinical and Experimental Gastroenterology, 13: 511.

Fischer, W., Tegtmeyer, N., Stingl, K. and Backert, S. 2020. Four chromosomal type IV secretion systems in Helicobacter pylori: composition, structure and function. Frontiers in Microbiology, 11: 1592.

Fisher, L., Fisher, A. and Smith, P. N. 2020. Helicobacter pylori related diseases and osteoporotic fractures (Narrative Review). Journal of Clinical Medicine, 9(10): 3253.

Gullo, I., Grillo, F., Mastracci, L., Vanoli, A., Carneiro, F., Saragoni, L. and Fassan, M. 2020. Precancerous lesions of the stomach, gastric cancer and hereditary gastric cancer syndromes. Pathologica, 112(3): 166.

Harris, R. B., Brown, H. E., Begay, R. L., Sanderson, P. R., Chief, C., Monroy, F. P. and Oren, E. 2022. Helicobacter pylori Prevalence and Risk Factors in Three Rural Indigenous Communities of Northern Arizona. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(2): 797.

Harrison, U., Fowora, M. A., Seriki, A. T., Loell, E., Mueller, S., Ugo-Ijeh, M. and Haas, R. 2017. Helicobacter pylori strains from a Nigerian cohort show divergent antibiotic resistance rates and a uniform pathogenicity profile. PloS One, 12(5): e0176454.

Hoal, E. G., Dippenaar, A., Kinnear, C., van Helden, P. D. and Möller, M. 2018. The arms race between man and Mycobacterium tuberculosis: Time to regroup. Infection, Genetics and Evolution, 66: 361-375.

Hold, G. L. and Hansen, R. 2019. Impact of the gastrointestinal microbiome in health and disease: co-evolution with the host immune system. Molecular Mechanisms of Inflammation: Induction, Resolution and Escape by Helicobacter Pylori, 421: 303-318.

Horrigan, J., Tadros, M. and Jacob, J. 2021. An Introduction to the Clinical Approach and Management of Occult Gastrointestinal Bleeding. In Management of Occult GI Bleeding, pp. 3-18, Cham.

Idowu, A., Mzukwa, A., Harrison, U., Palamides, P., Haas, R., Mbao, M. and Njom, H. 2019. Detection of Helicobacter pylori and its virulence genes (cag A, dup A, and vac A) among patients with gastroduodenal diseases in Chris Hani Baragwanath Academic Hospital, South Africa. BMC Gastroenterology, 19(1): 1-10.

Jamshidi, A., Khanzadi, S., Azizi, M., Azizzadeh, M. and Hashemi, M. 2014. Modeling the growth of Staphylococcus aureus as affected by black zira (Bunium persicum) essential oil, temperature, pH and inoculum levels. In Veterinary Research Forum: an International Quarterly Journal 5(2): 107.

Jones, N. L., Koletzko, S., Goodman, K., Bontems, P., Cadranel, S., Casswall, T. and Rowland, M. 2017. Joint ESPGHAN/NASPGHAN guidelines for the management of Helicobacter pylori in children and adolescents (update 2016). Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 64(6): 991-1003.

Jung, S. W., Sugimoto, M., Shiota, S., Graham, D. Y. and Yamaoka, Y. 2012. The intact dupA cluster is a more reliable Helicobacter pylori virulence marker than dupA alone. Infection and İmmunity, 80(1): 381-387.

Karbalaei, M., Hussein, N. R. and Keikha, M. 2021. Predicting the role of dupA-positive Helicobacter pylori strains in severe gastrointestinal disorders: An updated meta-analysis. Gene Reports, 24: 101263.

Khatoon, J., Rai, R. P. and Prasad, K. N. 2016. Role of Helicobacter pylori in gastric cancer: Updates. World Journal of Gastrointestinal Oncology, 8(2): 147.

Kotilea, K., Bontems, P. and Touati, E. 2019. Epidemiology, diagnosis and risk factors of Helicobacter pylori infection. Helicobacter pylori in Human Diseases, 17-33, Ukraine.

Kountouras, J., Deretzi, G., Gavalas, E., Zavos, C., Polyzos, S. A., Kazakos, E. and Giouleme, O. 2014. A proposed role of human defensins in Helicobacter pylori-related neurodegenerative disorders. Medical Hypotheses, 82(3): 368-373.

Kurakula, M. and Koteswara Rao, G. S. 2021. Probiotics in Lung Cancer: An Emerging Field of Multifarious Potential and Opportunities. In Probiotic Research in Therapeutics, pp. 125-158, Singapore.

Lauman, P. and Dennis, J. J. 2021. Advances in Phage Therapy: Targeting the Burkholderia cepacia Complex. Viruses, 13(7): 1331.

Li, H., Yang, T., Liao, T., Debowski, A. W., Nilsson, H. O., Haslam, S. M. and Benghezal, M. 2017. Insights from the redefinition of Helicobacter pylori lipopolysaccharide O-antigen and core-oligosaccharide domains. Microbial Cell, 4(5): 175.

Liou, J. M., Malfertheiner, P., Lee, Y. C., Sheu, B. S., Sugano, K., Cheng, H. C. and El-Omar, E. M. 2020. Screening and eradication of Helicobacter pylori for gastric cancer prevention: the Taipei global consensus. Gut, 69(12): 2093-2112.

Malfertheiner, P., Megraud, F., O'morain, C. A., Gisbert, J. P., Kuipers, E. J., Axon, A. T. and El-Omar, E. M. 2017. Management of Helicobacter pylori infection the Maastricht V/Florence consensus report. Gut, 66(1): 6-30.

Marcus, E. A., Sachs, G. and Scott, D. R. 2016. Eradication of Helicobacter pylori infection. Current Gastroenterology Reports, 18(7): 1-9.

Mohammadian, T. and Ganji, L. 2019. The diagnostic tests for detection of Helicobacter pylori infection. Monoclonal Antibodies in İmmunodiagnosis and İmmunotherapy, 38(1): 1-7.

Murata, M., Sugimoto, M., Mizuno, H., Kanno, T. and Satoh, K. 2020. Clarithromycin versus metronidazole in first-line Helicobacter pylori triple eradication therapy based on resistance to antimicrobial agents: Meta-analysis. Journal of Clinical Medicine, 9(2): 543.

Ocejo, M., Oporto, B. and Hurtado, A. 2019. 16S rRNA amplicon sequencing characterization of caecal microbiome composition of broilers and free-range slow-growing chickens throughout their productive lifespan. Scientific Reports, 9(1): 1-14.

Palframan, S. L., Kwok, T. and Gabriel, K. 2012. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for Helicobacter pylori pathogenesis. Frontiers in Cellular and İnfection Microbiology, 2, 92.

Pinto-Ribeiro, I., Ferreira, R. M., Batalha, S., Hlaing, T., Wong, S. I., Carneiro, F. and Figueiredo, C. 2016. Helicobacter pylori vacA genotypes in chronic gastritis and gastric carcinoma patients from Macau, China. Toxins, 8(5): 142.

Pohl, D., Keller, P. M., Bordier, V. and Wagner, K. 2019. Review of current diagnostic methods and advances in Helicobacter pylori diagnostics in the era of next generation sequencing. World journal of gastroenterology, 25(32): 4629.

Poirel, L., Jayol, A. and Nordmann, P. 2017. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. Clinical Microbiology Reviews, 30(2): 557-596.

Randel, A. 2018. H. pylori infection: ACG updates treatment recommendations. American Family Physician, 97(2) 135-137.

Rhody, N. R., Neidig, C. L., Grier, H. J., Main, K. L. and Migaud, H. 2013. Assessing reproductive condition in captive and wild common snook stocks: a comparison between the wet mount technique and histological preparations. Transactions of the American Fisheries Society, 142(4): 979-988.

Roller, L. and Gowan, J. 2018. Disease state management: Gastro-intestinal disorders: Peptic ulcer disease. AJP: The Australian Journal of Pharmacy, 99(1179): 58-67.

Sabbagh, P., Mohammadnia-Afrouzi, M., Javanian, M., Babazadeh, A., Koppolu, V., Vasigala, V. R. and Ebrahimpour, S. 2019. Diagnostic methods for Helicobacter pylori infection: ideals, options, and limitations. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 38(1): 55-66.

Sarmah, P., Dan, M. M., Adapa, D. and Sarangi, T. K. 2018. A review on common pathogenic microorganisms and their impact on human health. Electronic Journal of Biology, 14(1): 50-58.

Shafaghi, A., Pourkazemi, A., Khosravani, M., Asl, S. F., Maafi, A. A., Roshan, Z. A. and Rahimabad, J. A. 2016. The effect of probiotic plus prebiotic supplementation on the tolerance and efficacy of Helicobacter pylori eradication quadruple therapy: a randomized prospective double blind controlled trial. Middle East Journal of Digestive Diseases, 8(3): 179.

Sharma, C. M., Hoffmann, S., Darfeuille, F., Reignier, J., Findeiß, S., Sittka, A., & Vogel, J. 2010. The primary transcriptome of the major human pathogen Helicobacter pylori. Nature, 464(7286): 250-255.

Shiota, S., Murakawi, K., Suzuki, R., Fujioka, T. and Yamaoka, Y. 2013. Helicobacter pylori infection in Japan. Expert review of Gastroenterology and Hepatology, 7(1): 35-40.

Singh, P., Tiwari, S. P., Mehdi, M. M. and Sharma, R. 2021. Role of Bacterial Infection (H. pylori) in Colon Carcinogenesis and Therapeutic Approaches. In Colon Cancer Diagnosis and Therapy, pp. 109-142, Cham.

Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S. and Lynch, S. V. 2015. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. PloS One, 10(2): e0117617.

Stefano, K., Rosalia, A., Chiara, B., Federica, G., Marco, M., Gioacchino, L. and Gian, L. D. 2018. Non-invasive tests for the diagnosis of helicobacter pylori: state of the art. Acta Bio Medica: Atenei Parmensis, 89(8): 58.

Šterbenc, A., Jarc, E., Poljak, M. and Homan, M. 2019. Helicobacter pylori virulence genes. World Journal of Gastroenterology, 25(33): 4870.

Troeger, C., Blacker, B., Khalil, I. A., Rao, P. C., Cao, J., Zimsen, S. R. and Reiner Jr, R. C. 2018. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. The Lancet İnfectious Diseases, 18(11): 1191-1210.

Venerito, M., Goni, E. and Malfertheiner, P. 2016. Helicobacter pylori screening: options and challenges. Expert Review of Gastroenterology and Hepatology, 10(4): 497-503.

Wang, G., Romero-Gallo, J., Benoit, S. L., Piazuelo, M. B., Dominguez, R. L., Morgan, D. R. and Maier, R. J. 2016. Hydrogen metabolism in Helicobacter pylori plays a

role in gastric carcinogenesis through facilitating CagA translocation. MBio, 7(4): e01022-16.

Waskito, L. A., Yih-Wu, J. and Yamaoka, Y. 2018. The role of integrating conjugative elements in Helicobacter pylori: a review. Journal of Biomedical Science, 25(1): 1-10.

Xu, W., Li, B., Xu, M., Yang, T. and Hao, X. 2022. Traditional Chinese medicine for precancerous lesions of gastric cancer: A review. Biomedicine and Pharmacotherapy, 146: 112542.

Yadav, S., Sadique, M. A., Ranjan, P., Kumar, N., Singhal, A., Srivastava, A. K. and Khan, R. 2021. SERS based lateral flow immunoassay for point-of-care detection of SARS-CoV-2 in clinical samples. ACS Applied Bio. Materials, 4(4): 2974-2995.

Yahya, N. B. 2018. Helicobacter pylori Seropositivity in Children in Duhok City, Iraq. Science Journal of University of Zakho, 6(3): 82-87.

Yousefi, B., Mohammadlou, M., Abdollahi, M., Salek Farrokhi, A., Karbalaei, M., Keikha, M. and Eslami, M. 2019. Epigenetic changes in gastric cancer induction by Helicobacter pylori. Journal of Cellular Physiology, 234(12): 21770-21784.

Zamani, M., Vahedi, A., Maghdouri, Z. and Shokri-Shirvani, J. 2017. Role of food in environmental transmission of Helicobacter pylori. Caspian Journal of İnternal Medicine, 8(3): 146.

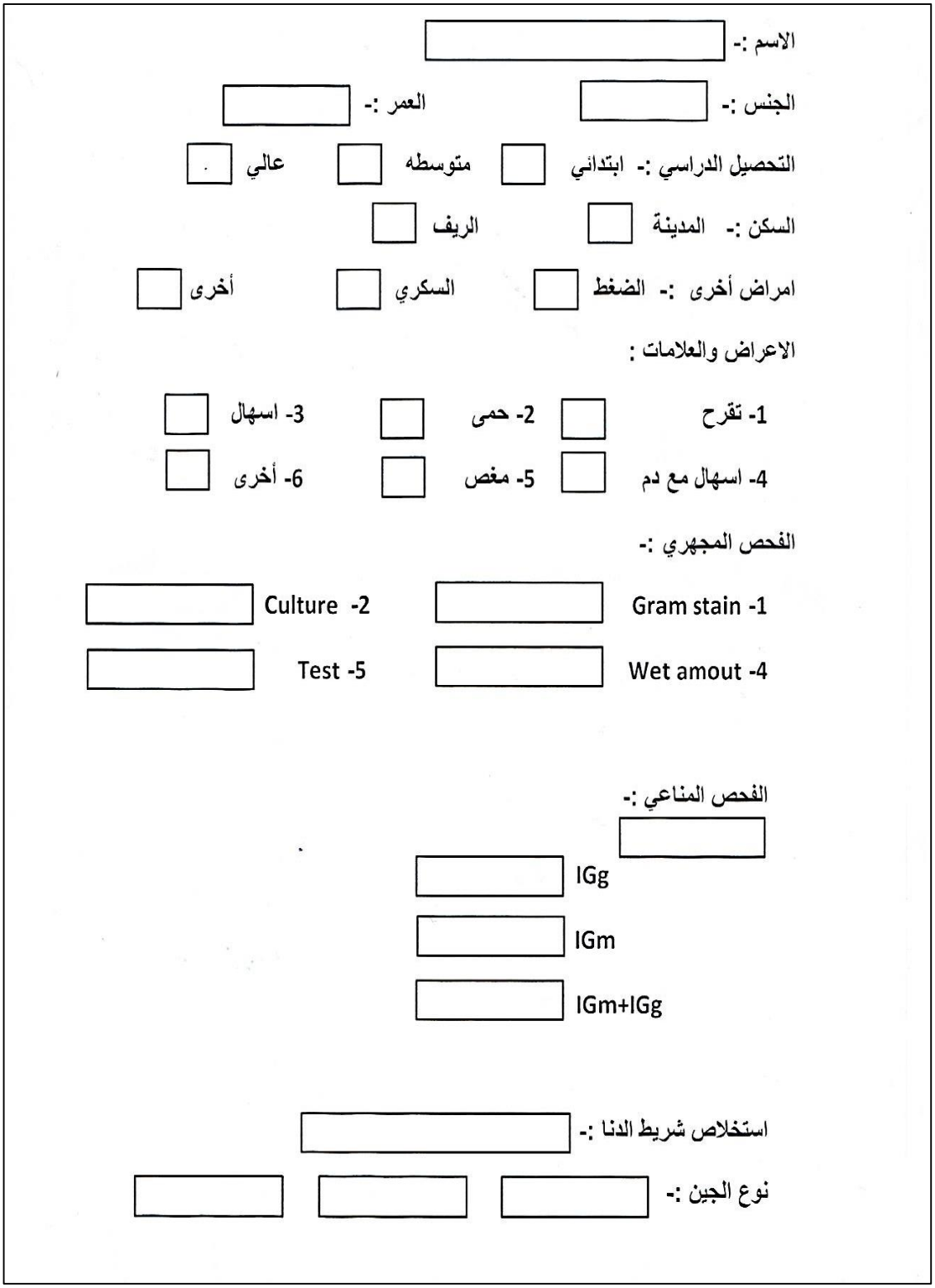
Zendehdel, K. 2014. Risk indicators for esophageal cancer: some medical conditions and tobacco-related Indicators. Basic and Clinical Cancer Research, 6(2): 1-1.

EKLER

EK 1. Anket

EK 2. Görevi kolaylaştırmak için resmi bir rapor

EK 1. Anket


الاسم :-
الجنس :-
العمر :-
التحصيل الدراسي :- ابتدائي
متوسطه
عالي
السكن :- المدينة
الريف
امراض أخرى :- الضغط
السكري
أخرى
الاعراض والعلامات :
1- تقرح
2- حمى
3- اسهال
4- اسهال مع دم
5- مغص
6- أخرى
الفحص المجهري :-
Gram stain -1
Culture -2
Wet amout -4
Test -5
الفحص المناعي :-
IGg
IGm
IGm+IGg
استخلاص شريط الدنا :-
نوع الجين :-

EK 2. Görevi kolaylaştırmak için resmi bir rapor



Republic of iraq
Ministry of Health
Misan Health Directorate
Training & Human Development Center
Department Office

جمهورية العراق
وزارة الصحة
دائرة صحة ميسان
مركز التدريب والتنمية البشرية
مكتب القسم

العدد// ١٠٥
التاريخ/ ٦ / ٢٠٢٢/٣

إلى / م. الصدر التعليمي
/ م. الزهراوي الجراحي
م/ تسهيل مهمة

تحية طيبة ...

بناءا على الطلب المقدم من قبل السيد (محمد هاشم عبد الحسن) والمقترن بموافقة السيد المدير العام بتاريخ ٢٠٢٢/٣/٢ يرجى تسهيل مهمة الموما اليه اعلاه لغرض الحصول على العينات والمعلومات الخاصة ببحثه الموسوم (عوامل الفوعة بالبكتريا الحلزونية البوابية vaca وdupa المرتبطة بالسيتوكونيات المؤيدة لالتهاب التنبؤ بتفرحة المعدة والاورام الخبيثة في المعدة) للفترة من ٢٠٢٢/٣/٦ الى ٢٠٢٢/١٢/١٢ وفق الضوابط واصوليا علما ان الموما اليه من منتسبين دائرة صحة ميسان

مع التقدير ...

الدكتورة الصيدلانية
انعام صدام لفته
مدير المركز
٢٠٢٠ / ٣ / ٦

ناظور الجهاز الهضمي + المختبر
تسهيل مهمة
رئيس الاختصاصي
فصي جفعة البغدادي
معاون المدير للشؤون العلمية
٢٠٢٢/٣/٦

الدكتور
سعد محسن الثعالبي
اختصاص باطنية

الدكتور
محمد قاسم جلوب
مدير شعبة المختبرات

صورة عنه إلى :
- شعبة إدارة المعرفة / للحفظ مع الأوليات.

البريد الالكتروني لمركز التدريب والتنمية البشرية / ميسان TDD.MAYSAN@gmail.com

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Mohammed Hashim Abdulhasan ALSADY

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Madenat Al-Elem Üniversitesi Bilim Koleji Biyoloji Bölümü	2011-2013