Randomizirano kliničko ispitivanje: usporedba personalizirane i četverostruke konkomitantne terapije u liječenju Helicobacter pylori infekcije

Perković, Nikola

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:380981

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-28**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

NIKOLA PERKOVIĆ

RANDOMIZIRANO KLINIČKO ISPITIVANJE: USPOREDBA PERSONALIZIRANE I ČETVEROSTRUKE KONKOMITANTNE TERAPIJE U LIJEČENJU HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJE

DOKTORSKA DISERTACIJA

SPLIT 2022.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Split.

Voditelj rada, mentor:

prof. dr. sc. Ante Tonkić, dr. med.

Zahvala

Zahvaljujem mentoru prof. dr. Anti Tonkiću na ukupnoj pomoći i poticaju.
Hvala mojim kolegama na pomoći pri istraživanju. Zahvaljujem prof. dr. Jošku Božiću na ukazanoj potpori.

Disertaciju posvećujem mojoj obitelji.

SADRŽAJ

1. UVOD **1**

1.1. H. pylori - povijest otkrića 3

1.2. H. pylori - struktura i patogeneza 4

1.3. H. pylori - epidemiologija 11

1.4.1. H. pylori i gastritis 12

1.4.2. H. pylori i gastroduodenalni ulkusi 13

1.4.3. H. pylori i MALT limfomi 13

1.4.4. H. pylori i karcinom želuca 14

1.4.5. H. pylori i gastroezofagealna refluksna bolest 15

1.5. H. pylori i izvanželučane bolesti 15

1.5.1. H. pylori i neurološke bolesti 16

1.5.2. H. pylori i kardiovaskularne bolesti 18

1.5.3. H. pylori i metaboličke bolesti 19

1.5.4. H. pylori i hepatobilijarne bolesti 20

1.5.5. H. pylori i hematološke bolesti 20

1.5.6. H. pylori i dermatološke bolesti 21

1.5.7. H. pylori i alergijske bolesti 22

1.6. Dijagnostika H. pylori infekcije 22

1.6.1. Neinvazivni dijagnostički testovi 23

1.6.2. Invazivni dijagnostički testovi 26

1.7. Liječenje H. pylori infekcije 28

1.7.1. Rezistencija i mehanizam neuspjeha liječenja 32

1.7.2. Test izliječenja 34

1.7.3. Prepreke uspješnoj terapiji 35

1.7.4. Terapije prve linije 36

1.7.5. Terapije druge linije 38

1.7.6. Terapije treće linije 41

1.7.7. Populacije s posebnim karakteristikama 43

2. CILJ I HIPOTEZE **45**

3. ISPITANICI I POSTUPCI **47**

3.1. Ispitanici 48

3.2. Postupci 48

3.3. Statistička analiza podataka 50

4. REZULTATI **51**
4.1. Karakteristike studijske grupe 52
4.2. Ishodi 54
4.2.1. Stopa eradikacije i antimikrobne rezistencije 54
4.2.2. Suradljivost i neželjeni događaji 55
5. RASPRAVA **57**
6. ZAKLJUČCI **61**
7. SAŽETAK **64**
8. SUMMARY **66**
9. LITERATURA **68**
10. ŽIVOTOPIS **91**

POPIS KRATICA I OZNAKA

BabA - antigen krvne grupe vezujući adhezin (engl. *Blood Group Antigen-Binding Adhesin*)

BQT - četverostruka terapija temeljena na bizmutu (engl. *Bismuth Quadruple Therapy*)

CagA - citotoksin-povezani gen A (engl. *Cytotoxin-Associated Gene A*)

cagPAI - citoksin-povezani gen otok patogenosti (engl. *Cytotoxin-Associated Gene Pathogenicity Island*)

CGRP - kalcitonin gen-povezani peptid (engl. *Calcitonin Gene-Related Peptide*)

CYP - citokrom (engl. *Cytochrome*)

ELISA - enzimska imunoadsorpcijska pretraga (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

EGDS - ezofagogastroduodenoskopija (engl. *Esophagogastroduodenoscopy*)

Fla - flagelin (engl. *Flagellin*)

Hop – *Helicobacter pylori* protein vanjske membrane (engl. *Helicobacter Outer Membrane Protein*)

Hsp60 - protein toplinskog stresa (engl. *Heat Shock Protein 60*)

IARC - Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer*)

Ig - imunoglobulin (engl. *Immunoglobulin*)

IL - interleukin (engl. *Interleukin*)

IFN-γ - interferon γ (engl. *Interpheron-γ*)

IPP - inhibitori protonske pumpe (engl. *Proton Pump Inhibitors*)

IQR - interkvartilni raspon (engl. *Interquartile Range*)

ITP - idiopatska trombocitopenična purpura (engl. *Idiopathic Thrombocytopenic Purpura*)

ITT - s namjerom liječenja (engl. *Intention-To-Treat*)

MDR - višestruka rezistencija na lijekove (engl. *Multiple Drug Resistance*)

NAFLD - nealkoholna masna bolest jetre (engl. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease*)

NAP - neutrofil-aktivirajući protein (engl. *Neutrophil Activating Protein A*)

NBI - uskopojasni slikovni prikaz (engl. *Narrow Band Imaging*)

NF-κB - nuklearni čimbenik (engl. *Nuclear Factor-κB*)

NNT - broj potreban za liječenje (engl. *Number Needed to Treat*)

NPT - brzi testovi uz pacijenta (engl. *Near Patient Test*)

NBQT - četverostruka terapija koja nije temeljena na bizmutu (engl. *non-Bismuth Quadruple Therapy*)

NSAID - nesteroidni protuupalni lijekovi (eng. *non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*)

OipA - vanjski upalni protein A (engl. *Outer Inflammatory Protein*)

OLGA - operativni sustav za procjenu gastritisa (engl. *Operative Link on Gastritis Assessment*)

OLGIM - operativni sustav želučane intestinalne metaplazije (engl. *Operative Link on Gastric Intestinal Metaplasia*)

P-CAB - kalij-kompetirajući kiselina inhibitor (engl. *Potassium-competitive acid blocker*)

PCR - lančana reakcija polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*)

PD - ligand programirane smrti (engl. *Programmed Death-Ligand*)

PP - prema protokolu (engl. *Per-Protocol*)

RUT - brzi ureaza test (engl. *Rapid Urease Test*)

SabA - sijalična kiselina-vezujući adhezin (engl. S*ialic Acid Binding Adhesin*)

SAT - antigen iz stolice (engl. *Stool Antigen Test*)

Th - T pomagački limfociti (engl. *T Helper Cells*)

TGF-β - transformacijski faktor rasta β (engl. *Transforming Growth Factor β*)

Treg - T regulacijski limfociti (engl. *T Regulating Cells*)

TNF - tumor nekroza čimbenik (engl. *Tumour Necrosis Factor*)

T4SS - tip 4 sekrecijski sustav (engl. *Type 4 Secretion System*)

UBT - ureja izdisajni test (engl. *Urea Breath Test*)

VacA - vakuolizirajući citotoksin A (engl. *Vacuolating Cytotoxin A*)

WLE - endoskopija bijelog svjetla (engl. *White Light Endoscopy*)

1. UVOD

Više od polovice svjetske populacije su nositelji *H. pylori* (1) Infekcija se uglavnom dobiva u djetinjstvu i traje doživotno. Značajan čimbenik rizika je niži društveni i ekonomski status tijekom djetinjstva koji uglavnom odražava loš higijenski standard ili mali i gusti životni prostor (2). Novostečene infekcije u odrasloj dobi su rijetkost. Rezervoar *H. pylori* je ljudski želudac. *H. pylori* se smatra glavnim patogenom uključenim u nastanak benignog peptičkog ulkusa i funkcionalne dispepsije, kao i raka želuca (3,4). Konsenzus iz Kyota iz 2015. definirao je gastritis *H. pylori* kao zaraznu bolest koja zahtijeva liječenje bez obzira na simptomatologiju jer eradikacija može spriječiti gore navedene komplikacije (5).

Liječenje infekcije *H. pylori* trenutno je komplicirano povećanjem antimikrobne rezistencije u različitim dijelovima svijeta (6,7). Odgovarajuće povećanje rezistencije na klaritromicin, kao i na kinolone i metronidazol predstavlja veliki klinički problem i zahtijeva novi pristup liječenju (8,9). U takvim okolnostima javlja se trend prema personaliziranoj eradikacijskoj terapiji (10,11). Budući da je infekcija *H. pylori* zarazna bolest, njezino optimalno liječenje treba teoretski i praktično temeljiti na specifičnim karakteristikama soja i ako je moguće domaćina infekcije (12,13). Cilj takvog pristupa trebao bi biti bolja učinkovitost iskorjenjivanja. Nedavno priznanje *H. pylori* kao zarazne bolesti pomaknulo je fokus na terapije optimizirane za pouzdano postizanje visokih stopa izlječenja. Povećana rezistencija na antimikrobne lijekove također je dovela do limitiranja učinka klaritromicina, levofloksacina ili metronidazola i fokus premjestila na terapije temeljene na osjetljivosti. Covid-19 rezultirao je gotovo univerzalnom dostupnošću kompleta za testiranje metodom PCR (engl. *polymerase chain reaction*) u bolnicama koji mogu biti upotrijebljeni za brzo i jeftino otkrivanje rezistencije na antibiotike. Trenutni trendovi preporuka uključuju: (a) koristiti samo terapije koje su pouzdano visoko učinkovite lokalno, (b) uvijek provoditi test izlječenja i (c) koristiti te podatke za potvrdu lokalne učinkovitosti s dijeljenjem rezultata kako bi informirali zajednicu o tome koje su terapije učinkovite, a koje ne. Empirijska terapija treba biti ograničena na onu za koje se pokazalo da je lokalno učinkovita. Prethodne smjernice i preporuke za liječenje treba koristiti samo ako se pokažu lokalno visoko učinkovitima.

Četverostruke terapije bez bizmuta predložene su kao potencijalne strategije za poboljšanje učinkovitosti liječenja prve linije (14,15). Četverostruka konkomitantna terapija bez bizmuta sastoji se od inhibitora protonske pumpe (IPP), amoksicilina, nitroimidazola i klaritromicina koji se daju istovremeno dva puta dnevno. Kao rezultat istodobne primjene ova je terapija prema nekim studijama dala bolje rezultate u usporedbi sa sekvencijalnim varijantama (16,17). Međutim, ova terapija pati i od spomenutog povećanja rezistencije na antibiotike. Nadalje, ne postoji definirana optimalna terapija eradikacije infekcije *H. pylori* koja bi bila jednako učinkovita u svim regijama

(18, 19). Stoga se savjetuje odrediti primarnu rezistenciju na najčešće korištene antibiotike u eradikaciji infekcije *H. pylori* u svakoj regiji (20,21). Djelotvornost prilagođene terapije u liječenju H. pylori u Hrvatskoj do danas nije istraživana. S obzirom da se izbor eradikacijske terapije prvenstveno temelji na lokalnoj rezistenciji na antibiotike, bitno je ispitati učinkovitost prilagođene i popratne terapije u eradikaciji *H. pylori* na splitsko-dalmatinskom području, znajući da je rezistencija na klaritromicin iznad 20% u našim krajevima (7,20). Stoga je cilj ovog istraživanja bio usporediti istodobnu četverostruku terapiju bez bizmuta s prilagođenom terapijom temeljenom na ispitivanju osjetljivosti soja na antibiotike.

1.1. *H. pylori* - povijest otkrića

Otkriće povezanosti infekcije bakterijom *H. pylori* s bolestima gastroduodenalnog sustava je jedno od najvažnijih otkrića u gastroenterologiji u posljednjih trideset godina. Već početkom dvadesetog stoljeća je danski znanstvenik Johannes Fibiger opisao nastanak raka želuca kod miševa nakon namjernog inficiranja s mikroorganizmom kojeg je nazvao Spiroptera carcinoma (1). Godine 1927. je dobio za to okriće Nobelovu nagradu. Većina liječnika u tom periodu a i kasnije nije dovodila u svezu infektivne čimbenike i gastroduodenalne bolesti, poglavito gastroduodenalni ulkus već je bila pobornik teze o primarnoj ulozi želučane kiseline u patogenezi ulkusne bolesti. Stoga je i liječenje bilo usmjereno na neutralizaciju želučane kiseline. Allende je 1951. godine opisao uspjeh u liječenju ulkusne bolesti nakon primjene penicilina čime je nanovo otvorio mogućnost infektivog čimbenika u patogenezi te bolesti. Konačno, početkom osamdestih godina prošlog stoljeća su dvojica australijskih liječnika Marshall i Warren iz Pertha počeli istraživati bakterijsku kolonizaciju želuca uz primjenu elektronskog mikroskopa. Na taj način utvrdili su postojanje spiralne bakterije duge 2 i široke 0.5 mikrona. Mikrobiolog Goodwin je bakteriju uvrstio u rod Campylobacter i nazvao je Campylobacter pyloris (23). Godine 1989. je konačno bakterija nazvana Helicobacter pylori. Marshall je pretpostavio da je infekcija ovom bakterijom povezana s upalom sluznice želuca i pojavom peptičnog ulkusa. Svoje pretpostavke je dokazao tako da je inficirao samog sebe uzorkom dobivenim iz uzgojene kulture te potom akutno obolio s pojavom dispeptičkih simptoma. Deseti dan bolesti mu je napravljena gastrokopija i uzet uzorak sluznice antruma želuca. Patohistološki pregled je potvrdio upalu sluznice želuca i prisutnost spiralnih bakterija na površini sluznice. Za otkriće *Helicobacter pylori (H. pylori)* i uloge koju bakterija ima u razvoju gastritisa i

peptičnog ulkusa, Warren i Marshall nagrađeni su 2005. godine Nobelovom nagradom. Do danas prepoznato je 37 vrsta bakterija unutar roda *Helicobacter*, od kojih najveći klinički značaj ima *H. pylori*. *Helicobacter* vrste pokazuju visoku razinu organ- specifičnosti te ih sukladno tom kriteriju dijelimo u dvije velike skupine: želučane i enterohepatične. Iako se prvenstveno mogu naći kod životinja, pojedine vrste unutar roda *Helicobacter* mogu kolonizirati i želudac čovjeka: *H. bizzozeroni, H. salomonis, H. heilmannii, H. felis, H. suis* (23-25). Među njima, najviše se ističe *H. heilmannii* koji može izazvati gastritis kod ljudi (26). Najveći klinički značaj ima *H. pylori* koji primarno dovodi do infekcije ljudskog probavnog sustava (27).

1.2. *H. pylori* - struktura i patogeneza

Helicobacter pylori je gram-negativna bakterija spiralnog oblika, dugačka oko 3 μm, promjera između 0.5 i 1 mikrometara. Stanična ovojnica bakterije sastoji se od dvije membrane: unutarnje citoplazmatske i vanjske. Vanjska membrana sastoji se od fosfolipida i lipopolisaharida, a sam lipopolisaharid sadrži lipid A, sržni oligosaharid i postranični O lanac. Lipopolisaharidni O antigen može biti fukoziliran i oponašti antigene Lewisove krvne grupe koji se nalaze u želučanom epitelu. Vanjska membrana također sadrži glukozide kolesterola koje nalazimo u nekoliko drugih bakterija. Stvara enzime kao što su: ureaza, katalaza, hemolizin, proteaze, oksidaza i citotoksin (28). *H. pylori* se u tkivu može prikazati bojanjem po Gramu, po Giemsi. Bakterija ima sposobnost stvoriti biofilm. *H. pylori* ima 4 do 6 bičeva na istom polu. Sve vrste želučanih i enterohepatičnih *Helicobactera* su izrazito pokretne zahvaljujući bičevima. Karakteristični filamenti bičeva *Helicobactera* građeni su od dva kopolimerizirana flagelina, FlaA i FlaB (29). Kiseli želučani sadržaj nepogodan je za život virusa, bakterija i ostalih mikroorganizama, no *H. pylori* može preživjeti u ovakvoj okolini zahvaljujući enzimu ureazi koja pretvara ureju u amonijak i ugljični dioksid te tako neutralizira želučanu kiselinu i povisuje pH okolnih stanica (30). *H. pylori* posjeduje 4 do 8 unipolarnih flagela koje mu osiguravaju mobilnost. Svaka se sastoji od tri temeljna dijela: tijela, kuke i filamenta (31). Najbitniji čimbenici virulencije *H. pylori* su vakuolizirajući citotoksin A (VacA) i citotoksinu pridruženi gen (cagA). VacA poslije endocitoze stvara vakuole i na taj način ošteti stanice endotela (32). CagA pripada cag otoku patogenosti (PAI) koji se sastoji od 31 gena i jedan je od najviše istraženih čimbenika virulencije. Ti geni kodiraju T4SS. T4SS je igli slična struktura koja prodire kroz membrane epitelnih stanica želuca i u njih ubacuje produkte *H. pylori,*

uključujući i CagA. CagA je najvirulentniji čimbenik povezan s ovom bakterijom, i ako je prisutan, on je faktor rizika za razvoj čira na želucu i želučanog karcinoma. CagA i muropeptidi u stanici aktiviraju signalne putove koji vode do ekspresije gena i proizvodnje upalnih citokina i kemokina (33,34). Kolonizacija s *H. pylori* može biti povezana s nakupljanjem povećanog broja upalnih stanica u lamini propriji želučanog epitela. Stvaranje upalnih citokina smanjuje razinu somatostatina i uzrokuje povećanu razinu gastrina. Misli se da kronična upala koju uzrokuje *H. pylori* stvara u želučanoj sluznici aplastične promjene koje mogu dovesti do želučanog karcinoma. Helicobacter pylori ne prodire u tkivo želuca već ošteti sluznicu i kolonizira epitelne stanice sluznice. Organizam čovjeka reagira upalnom reakcijom koja pospješuje daljnje oštećenje tkiva želuca. U kulturi se obično može naći u obliku štapića i koka, ali i u nepravilnim oblicima. Mikroaerofilna je pa joj je za rast potrebno 5−6 % kisika, 7−12 % ugljikovog dioksida i povećana vlažnost. (34) Sposoban je preživjeti i razmnožavati se unutar želučane sluznice. Većina *H. pylori* u ovoj sredini živi slobodno; međutim, manji broj ih adherira isključivo na stanice želučanog epitela i na mjestu vezivanja stvaraju postolja slična onima koja se vide kod enteropatogene *E. coli*. Ove bakterije pokazuju spiralni oblik gibanja poput svrdla što im omogućava migraciju unutar želučane sluznice. Svi patogeni sojevi imaju visoku koncentraciju ureaze, što im omogućava da stvore amonijeve ione koji ih štite od želučane kiseline. *H. pylori* optimalno raste pri pH 6,0–7,0 te bi bio uništen i ne bi mogao rasti pri pH unutar želučanog lumena. (32,34). Želučana sluznica je relativno nepropusna za kiselinu i ima snažan puferski kapacitet. Na strani sluznice prema lumenu, pH je nizak (1,0–2,0); na strani epitela, pH je oko 7,4. *H. pylori* se nalazi duboko u mukoznom sloju blizu površine epitela gdje je vrijednost pH fiziološka. *H. pylori* također stvara proteazu koja modificira želučani mukus te još više smanjuje sposobnost kiseline da difundira kroz mukus. *H. pylori* stvara kao što je gore rečeno moćnu ureazu, koja proizvodi amonijak i daljnje puferiranje kiseline. Nakon što prodre u želudac domaćina, *H. pylori* pretvara ureu prisutnu u želučanom soku u NH3 i CO2 zahvaljujući svojoj intrinzičnoj enzimskoj aktivnosti (tj. ureazi). NH3 proizveden lizom uree aktivno se pumpa u periplazmatski prostor bakterijskog tijela, pridonoseći stvaranju alkalne pH vrijednosti koja bakteriji omogućuje preživljavanje u vrlo neprijateljskom okruženju kao što je ono koje se sastoji od kiselog želučanog soka. Zahvaljujući polarnoj flageli, *H. pylori* prelazi u svoju ekološku nišu koju predstavlja sloj sluzi i bikarbonata koji prekriva površinski epitel na razini želučanog antruma. Na tom mjestu stvaraju se uvjeti mikroanaerobioze koji su povoljni za opstanak bakterije koja u narednim fazama ostvaruje bliski kontakt sa stanicama domaćina iz kojih crpi hranjive tvari potrebne za svoj opstanak i konačnu kolonizaciju želuca. Nakon što je želudac domaćina koloniziran, *H. pylori* doprinosi, također indukcijom upalnog odgovora, dubokim modifikacijama

želučane homeostaze, kako u pogledu regulacije lučenja želučane kiseline, tako i u pogledu regulacije staničnog ciklusa i programirane stanične smrti (apoptoza) epitelnih stanica želuca. Te će modifikacije tada biti dijelom odgovorne za različitu anatomsko-kliničku evoluciju same infekcije.

H. pylori je jako pokretan, čak i u sluzi te sposoban da pronađe svoj put do površine epitela. *H. pylori* naliježe na želučani, a ne na intestinalni tip epitelnih stanica (35). Mehanizmi kojima *H. pylori* izaziva upalu i oštećenje sluznice nisu u potpunosti razjašnjeni, ali vjerojatno uključuju čimbenike i bakterije i domaćina. Bakterija invadira površinu epitelnih stanica do određenog stupnja. Toksini i lipopolisaharidi mogu oštetiti mukozne stanice, a amonijak koji nastaje djelovanjem ureaze može također izravno oštetiti stanice (35).

Prijenos infekcije događa se uglavnom fekalno-oralnim putem, posebice kontaminiranom vodom i hranom. Zapravo, stope prevalencije zaraze mnogo su veće u zemljama u razvoju s lošim socio-ekonomskim uvjetima. Moguć je i oralno-oralni prijenos, što pokazuje izolacija bakterije u slini i zubnom plaku.

Regulacija želučane sekrecije uglavnom se postiže na razini želučanog antruma, gdje D stanice koje proizvode somatostatin inhibiraju parakrino putem citoplazmatske digitalizacije G stanice koje proizvode gastrin, gastrointestinalni hormon koji stimulira lučenje klorovodične kiseline u želucu (33,36). U slučaju infekcije *H. pylori,* upalu antruma prati smanjenje i inhibicija D stanica. Iz tog razloga, G stanice, bez kočnice koju čini somatostatin koji proizvode D stanice, proizvode veće količine gastrina (36). Dakle, općenito su svi subjekti pozitivni na *H. pylori* hipergastrinemični. Gastrin koji luče G stanice ide u cirkulaciju i dospijeva u tjelesno-fundalnu regiju želuca, sjedište oksintnog područja želučane sluznice bogate parijetalnim stanicama, na čijoj se površini nalaze glavni receptori odgovorni za regulaciju želučane sekrecije, uključujući i one za gastrin. Interakcija između gastrina i njegovog receptora određuje proizvodnju klorovodične kiseline kroz naknadnu aktivaciju ATP-ovisne aktivirane vodik-kalijeve pumpe (tzv. protonska pumpa). Ako je sluznica fundusa tijela netaknuta, hipergastrinemija izazvana infekcijom će kod predisponiranih ispitanika uzrokovati povećanje mase parijetalnih stanica ili prisutnost parijetalnih stanica osjetljivijih na želučane podražaje, hipersekreciju kiseline koja bi mogla dovesti nakon razvoja duodenalnog ulkusa (36). U ispitanika s normalnom masom parijetalnih stanica i normalnom osjetljivošću istih na gastrin lučenje kiseline će ostati normalno. Konačno, u ispitanika kod kojih je infekcija *H. pylori* također izazvala upalu fundusa tijela, s atrofijom sluznice koja luči

kiselinu, hipergastrinemija će biti popraćena hipo-aklorhidrijom, stanjem predisponirajućim za razvoj raka želuca.

Infekcija *H. pylori* uzrokuje kronični gastritis u svih koloniziranih subjekata koji mogu, ali ne moraju biti povezani s dispeptičkim simptomima ulkusnog tipa (37). Također valja napomenuti da se dispepsija povezana s infekcijom *H. pylori* ne povlači uvijek s eradikacijom infekcije. Poboljšanje dispeptičkih simptoma kod ispitanika zaraženih *H. pylori* i uspješno podvrgnutih eradikacijskoj terapiji zapravo se postiže tek u trećini slučajeva. Drugačija je situacija kod bolesnika s ulkusom dvanaesnika, kod kojih eradikacija infekcije dovodi do potpunog izlječenja bolesti. Zapravo, u bolesnika s *H. pylori* pozitivnim ulkusom dvanaesnika, zacjeljivanje ulkusa dvanaesnika povezano s eradikacijom infekcije dovodi do znatno smanjene stope recidiva ulkusne bolesti nakon godinu dana praćenja (oko 2 %) u usporedbi sa stopom recidiva (oko 70%) pronađenom u ispitanika kod kojih cijeljenje ulkusa nije povezano s eradikacijom infekcije (37). Isto vrijedi i za želučani ulkus koji je povezan s infekcijom *H. pylori* u oko 80-90% slučajeva, za razliku od ulkusa dvanaesnika koji je povezan s infekcijom H. pylori u 95-100% slučajeva (38). Zapravo, ulkus želuca je s patogenetske točke gledišta češće koreliran s uzimanjem nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID) dok je glavni čimbenik rizika za nastanak ulkusa dvanaesnika *H. pylori*. U posljednjem desetljeću, epidemiološki i eksperimentalni dokazi, kao i interventne studije, pokazali su da *H. pylori* ima odlučujuću patogenetsku ulogu u nastanku distalnog adenokarcinoma želuca i želučanog MALT (engl. *Mucosa Associated Lymphoid Tissue*) limfoma (39). Mehanizmi putem kojih *H. pylori* može pridonijeti karcinogenezi želuca još uvijek su hipotetski, ali je vjerojatno da stimulacija stanične proliferacije koja nije uravnotežena adekvatnom apoptozom igra dominantnu ulogu. Općenito, velika većina zaraženih ispitanika (otprilike 80-85%) razvija blagi mješoviti gastritis antruma i tijela povezan s promjenom želučane homeostaze koju karakterizira hipergastrinemija. Oko 10-15% zaraženih osoba razvije prevladavajući gastritis antruma, u kojem je hipergastrinemija povezana s pojačanom želučanom sekrecijom s mogućim razvojem duodenalnog ulkusa (40). Još niži postotak (oko 1-2%) razvija kao odgovor na infekciju prevladavajući gastritis tijela povezan s multifokalnim atrofičnim gastritisom, povišenim gastrinom, hipo ili aklorhidrijom, smanjenim omjerom pepsinogen I/pepsinogen II i mogućim razvojem želučanog ulkusa ili želučanog adenokarcinoma.

Razlog različite kliničke evolucije kao odgovora na infekciju *H. pylori* nije u potpunosti poznat, ali je vjerojatno da je u podlozi različita interakcija između čimbenika bakterijske virulencije, čimbenika okoliša i genetskog supstrata domaćina, shvaćenog kao vrsta kroničnog

upalnog odgovora na infekciju te kao proizvodnja sredstava sposobnih ometati mehanizme stanične proliferacije i/ili preživljavanja koji reguliraju homeostazu želučanih epitelnih stanica.

Među čimbenicima virulencije bakterija kako je navedeno odlučujuću ulogu imaju produkti patogenog otočića (cag PAI), umetak od 40 kbp sastavljen od 31 gena koji kodira niz proteina koji na različite načine utječu na želučanu homeostazu regulirajući proizvodnju pro-upalnih citokina i mehanizme odgovorne za kontrolu stanične proliferacije i apoptoze. cag PAI je prisutan u približno 60% zapadnih sojeva *H. pylori* i u 95-100% azijskih sojeva (41). Unutar gena cag PAI-a, onaj koji je najviše povezan s razvojem raka želuca je cagA, čiji je produkt, CagA, inokuliran unutar stanice domaćina zahvaljujući sustavu sekrecije, također kodiran cag PAI, tj. sustav izlučivanja tipa IV (TFSS). Unutar stanice, CagA je fosforiliran na razini tirozinskih ostataka definiranih kao motivi fosforilacije tirozina (TPM) (41,42). Ova fosforilacija aktivira SHP-2 tirozin fosfatazu što zauzvrat dovodi do aktivacije puta prijenosa signala povezanog s RAS-MAPK koji šalje poticaje za rast stanica. Bez obzira na svoju fosforilaciju, CagA stupa u interakciju s komponentama apikalnih spojnih kompleksa želučanih epitelnih stanica uzrokujući poremećaj funkcije epitelne barijere i displastične promjene u epitelnim staničnim elementima (43). Nadalje, CagA mijenja diferencijaciju epitelnih stanica koje gube svoj polaritet i staničnu adheziju i postaju sposobne za invaziju na ekstracelularni matriks. Na temelju varijabilnosti TPM-SHP-2 veznog mjesta, prepoznaju se dvije osnovne kategorije CagA, zapadna i istočna, potonja karakterizirana sposobnošću da jače veže SHP-2 i da ispoljava veće biološke učinke, pokrećući tako kaskadu unutarstaničnih događaja koji dovodi do nedostatka kontrole proliferacije želučanih epitelnih stanica. Drugi čimbenik bakterijske virulencije značajno povezan s razvojem gastroduodenalne bolesti uključujući rak želuca je vacA gen koji kodira protein VacA, koji ima sposobnost induciranja stvaranja citoplazmatskih vakuola u želučanim stanicama koloniziranog domaćina (44). Za razliku od cag PAI, vacA je prisutan u svim sojevima *H. pylori*, a razlike u ekspresiji i aktivnosti VacA između različitih bakterijskih sojeva ovise o varijacijama genske sekvence. Područja gena u kojima je evidentna najveća varijabilnost su regija sekrecije signalne sekvence s alelima tipa s1 ili s2 i srednja regija s alelima m1 ili m2 (44,45). VacA gen kodira drugi glavni protein odgovoran za virulenciju *H. pylori.* Postoje četiri glavne podvrste vacA: s1/m1, s1/m2, s2/m1 i s2/m2 (46,47). Poznato je da podtipovi s1/m1 i s1/m2 povećavaju rizik od raka želuca. To je povezano sa sposobnošću toksigene vacA da potiče stvaranje intracelularnih rezervoara *H. pylori* remećenjem kalcijevog kanala TRPML1 (47). VacA s1m1 snažno korelira s prisutnošću cag PAI i povezan je s povećanim rizikom od razvoja raka želuca u usporedbi s sojevima koji eksprimiraju VacA s2m2. U geografskim područjima s visokom

prevalencijom distalnog raka želuca, kao što su istočne azijske zemlje i Južna Amerika, većina izoliranih sojeva *H. pylori* izražava VacA s1m1, dok sojevi koji eksprimiraju VacA s2m2 prevladavaju u područjima gdje je incidencija proksimalnog raka želuca veća (48). Smatra se da VacA djeluje kao multifunkcionalni toksin koji se može ponašati i kao modulator staničnih funkcija (mijenjajući procese endocitoze, izazivajući apoptozu, aktivirajući specifične putove prijenosa signala relevantne za regulaciju staničnog ciklusa, mijenjajući međustaničnu propusnost djelovanjem na razini tijesnih spojeva) koji regulira stanični imunološki odgovor (mijenjajući fagocitozu i prezentaciju antigena i vrši imunosupresivno djelovanje kroz inhibiciju aktivacije i proliferacije T limfocita) (49). Postoje eksperimentalni dokazi da je VacA također sposoban inducirati proizvodnju proupalnih citokina od strane mastocita i stimulirati degranulaciju i kemotaksiju mastocita (50). Dodatni faktor bakterijske virulencije je BabA, membranski protein kodiran genom babA2 koji može biti prisutan, ovisno o geografskoj regiji, u 40-95% sojeva H. pylori i općenito je više zastupljen u azijskim sojevima. BabA posreduje u vezivanju bakterije na antigene ABO krvne grupe Lewis b izražene na želučanim stanicama (51). Bakterijski sojevi koji eksprimiraju babA2 više su povezani s razvojem raka želuca, a prisutnost babA2 korelira s prisutnošću cag PAI i s1 alelom vacA (52). Nadalje, želučana sluznica pacijenata zaraženih BabA pozitivnim sojevima ima veću gustoću bakterijske kolonizacije i višu razinu proupalnih citokina.

Serinska proteaza HtrA također igra veliku ulogu u patogenezi *H. pylori.* HtrA protein omogućuje bakteriji da transmigrira kroz epitel stanica domaćina, a također je potreban za translokaciju CagA (53). Kao što je gore spomenuto, *H. pylori* stvara velike količine ureaze za proizvodnju amonijaka kao jednu od svojih metoda prilagodbe za prevladavanje želučane kiselosti. Arginaza *H. pylori*, dvometalni enzim, binuklearna Mn2-metaloenzim arginaza, ključna za patogenezu bakterije u ljudskom želucu, član obitelji ureohidrolaze, katalizira pretvorbu L- arginina u L-ornitin i ureu, gdje se ornitin dalje pretvara u poliamine koji su neophodni za različite važne metaboličke procese (54). U enzimskoj reakciji koja slijedi, a koju vrši ureaza, urea se pretvara u ugljični dioksid i amonijak. Tako oslobođeni amonijak koristi *H. pylori* za svoj opstanak, jer je *H. pylori* vrlo osjetljiv na kiselo okruženje (55). To osigurava otpornost na kiselinu i stoga je važno za kolonizaciju bakterije u epitelnim stanicama želuca. Arginaza *H. pylori* također ima ulogu kod izbjegavanja imunološkog sustava domaćina, uglavnom raznim predloženim mehanizmima, arginaza se natječe sa sintazom domaćina koja može inducirati dušični oksid (NO) za uobičajeni supstrat L-arginin i tako smanjuje sintezu NO, važnu sastavnicu urođene imunosti i učinkovito antimikrobno sredstvo koje je u stanju izravno ubiti patogene (55). Promjene u količini L-arginina i

utjecaj na njegov metabolizam u poliamine značajno pridonose disregulaciji imunološkog odgovora domaćina na infekciju *H. pylori*. Poznato je da aktivnost arginaze značajno doprinosi patofiziologiji infekcije *H. pylori*, pa ga to čini privlačnom metom lijekovima. Inhibicija aktivnosti arginaze može smanjiti lokalnu količinu uree za proizvodnju amonijaka pod djelovanjem ureaze, a time zaustaviti rast *H. pylori* (56).

Čimbenici okoliša koji mogu najviše utjecati na kliničku evoluciju infekcije su 1) niska razina socio-ekonomskih uvjeta odnosno loši higijenski uvjeti koji pogoduju dobivanju infekcije u pedijatrijskoj dobi; 2) prehrana s visokim udjelom soli, koja bi mogla inhibirati procese apoptoze; 3) prehrana siromašna voćem i povrćem i bogata nitroziliranim spojevima, koji mogu pogodovati oksidativnom oštećenju DNA i inducirati mutagenezu i karcinogenezu (57). Naprotiv, čini se da prehrana bogata voćem i povrćem štiti od razvoja karcinoma probavnog sustava općenito, a posebno želuca (58). Povoljan učinak konzumacije voća i povrća u prehrani usko je povezan s unosom antioksidativnih komponenti kao što su askorbinska kiselina i beta-karoten (59). Konzumacija voća i povrća u prehrani statistički je značajno povezana s manjim relativnim rizikom od razvoja raka želuca (59). Nadalje, nedavno se pokazalo da prehrana obogaćena mikronutrijentima s antioksidativnim djelovanjem smanjuje progresiju i potiče regresiju želučanih prekanceroznih lezija kao što su crijevna metaplazija i želučana atrofija. Konačno, konzumacija zelenog čaja, bogatog epikatehin galatom, snažnim antioksidansom, povezana je s manjim rizikom od razvoja raka želuca, osobito kod žena (57,59).

Čimbenici povezani s domaćinom vjerojatno imaju temeljnu ulogu u određivanju ishoda infekcije, što opet ovisi o težini i anatomskoj distribuciji gastritisa izazvanog bakterijom. Osobe s gastritisom koji pretežno zahvaća tijelo imaju veću vjerojatnost za razvoj hipoklorhidrije, želučane atrofije, ulkusa na želucu i vjerojatno raka želuca. Pacijenti s gastritisom uglavnom lokaliziranim u antrumu imaju prekomjerno lučenje kiseline i vjerojatnije je da će razviti ulkus dvanaesnika. Konačno, osobe s blagim gastritisom i tijela i antruma imaju normalno lučenje kiseline i općenito ne razvijaju ozbiljne bolesti. Čini se da se ove anatomsko-kliničke slike međusobno isključuju i na njih uvelike utječe upalni odgovor želučane sluznice domaćina na infekciju. Čimbenici povezani s domaćinom uglavnom se sastoje od gena koji reguliraju proizvodnju proupalnih citokina (kao što je klaster gena IL-1β čiji polimorfizam povezan s prekomjernom proizvodnjom IL-1β određuje izraziti upalni odgovor na infekciju i duboku inhibiciju želučane sekrecije ili TNF-α, čiji pak polimorfizam, povezan s povećanom proizvodnjom TNF-α, uzrokuje inhibiciju lučenja želučane kiseline i aktivaciju intracelularnih signalnih puteva koji pogoduju proliferaciji stanica (60). Nadalje, genetski

supstrat domaćina mogao bi utjecati na povećan odgovor izlučivanja kiseline na hipergastrinemiju povezanu s infekcijom *H. pylori,* kroz određivanje povećane mase želučanih parijetalnih stanica ili zbog prisutnosti želučanih parijetalnih stanica osjetljivijih na želučane podražaje (61) . U slučaju da infekcija *H. pylori* zahvaća pacijenta s genetskim polimorfizmom IL-1β ili TNF-α, posebno ako je infektivni soj integrirao svoj cag PAI i izražava vakuolizirajući toksin tipa s1m1, kao odgovor na infekciju imat ćemo duboku supresiju želučane kiselosti s razvojem prevladavajućeg gastritisa tijela koji bi u kasnijim fazama crijevne atrofije i metaplazije u budućnosti mogao evoluirati prema razvoju raka želuca. U slučaju infekcije u pacijenta bez posebnih genetskih polimorfizama, gastritis će biti lokaliziran uglavnom u antrumu, a u prisutnosti genetski predisponiranih subjekata će se razviti hipersekrecija kiseline, povećana prisutnost kiseline u duodenumu s razvojem područja. želučane metaplazije na razini lukovice u kojoj će se lokalizirati *H. pylori,* što će potom uzrokovati razvoj ulkusa dvanaesnika.

1.3. *H. pylori* - epidemiologija

Otprilike 4.4 milijardi ljudi u svijetu zaraženo je *H. pylori.* Prevalencija infekcije varira među geografskim područjima. Najviša je u Africi (79.1%), Latinskoj Americi (63.4%) i u Aziji (54.7%), a najniža je u Sjevernoj Americi (37.1%) i Oceaniji (24.4%). U Europi prosječna prevalencija iznosi 39.8%. Podatci o epidemiološkoj situaciji u Europi ukazuju na značajnu varijaciju prevalencije između pojedinih zemalja od 18,9% u Švicarskoj te 22,1% u Danskoj do 82,5% u Estoniji te 86,4% u Portugalu. Prema istoj studiji, s prevalencijom od 52,7% Hrvatska ima sličnu prevalenciju kao i većina drugih mediteranskih zemalja (Italija 56,2%, Španjolska 54,9%, Grčka 52,1%) (62,63).

Početkom 21. stoljeća prevalencija je počela padati u visoko razvijenim zemljama zapadnog svijeta, a svoj plato je dostigla u zemljama u razvoju. Prevalencija ponekad varira i unutar same države gdje ovisi o dostupnosti pitke vode, razini urbanizacije i zdravstvenim mjerama (64). U zapadnim zemljama je prevalencija često viša kod prve i druge generacije migranata. U zemljama u razvoju većina se ljudi zarazi u prvih pet godina života, a u visoko razvijenim prevalencija zaraze je niska u djetinjstvu te se sporo povećava kako ljudi stare, pa incidencija među odraslima iznosi 0.5% godišnje (65). U meta- analizi prevalencije infekcije *H. pylori* provedenoj 2016. godine zaključeno je da je 20% do 40% zdrave djece mlađe od 5 godina zaraženo u visoko razvijenim zemljama, dok

taj postotak raste preko 40% u nisko razvijenim (66). Iako je infekcija *H. pylori* veoma raširena točan mehanizam prijenosa i dalje nije poznat. Najvjerojatniji putevi prijenosa uključuju: feko-oralni prijenos, oro-oralni prijenos, gastro-oralni prijenos, prijenos preko hrane i vode te intubacijom želuca (67).

1.4. *H. pylori* i želučane bolesti

Nakon što Helicobacter pylori kolonizira sluznicu želuca on će histološki dovesti do upale sluznice kod svih zaraženih ljudi, ali većina njih neće razviti nikakve simptome. Procjenjuje se da 10% do 20% zaraženih ljudi kroz život razvije ulkusnu bolest, a 1% do 2% oboli od raka želuca (57,59). Nadutost, gubitak težine, loš apetit, mučnina i povraćanje simptomi su koji se javljaju uz brojne bolesti gornjeg dijela probavnog sustava te je uz pojavu ovih simptoma bitno diferencijalno-dijagnostički uvijek posumnjati i na infekciju *H. pylori* (59).

1.4.1. *H. pylori* i gastritis

Upala sluznice želuca naziva se gastritis. Upalni odgovor sastoji se od infiltracije sluznice želuca neutrofilima, T i B limfocitima, plazma stanicama i makrofazima (68). Gastritis može biti akutni i kronični. Akutni gastritis najčešće uzrokuje alkohol i uporaba nesteroidnih protuupalnih lijekova. U upalnom odgovoru dominiraju neutrofili. U kliničkoj slici nalazimo bolnost, mučninu i povraćanje, gubitak tjelesne težine, ponekad melenu i hematemezu. Kronični gastritis je progresivna upala sluznice želuca koja uglavnom započne u djetinjstvu kao površna upala karakterizirana mononuklearnim infiltratom. U upalnom odgovoru kroničnog gastritisa dominiraju limfociti i plazma stanice (69). Kroz život se razvija do atrofije sluznice i gubitka žlijezda želučane sluznice te rasta novih, metaplastičnih žlijezda koje mogu biti intestinalnog ili piloričnog tipa. Ove atrofične promjene mogu biti ograničene na antrum (izlazni dio želuca), na korpus (tijelo želuca) ili čitav želudac što nazivamo pangastritisom (70). Procjenjuje se da će više od 50% ljudi koji boluju od kroničnog gastritisa kroz život razviti atrofični gastritis. Gubitak želučanih žlijezda i parijetalnih stanica korpusa dovodi do trajne hipoklorhidrije i niskog aciditeta želuca. Ljudi koji boluju od antralnog gastritisa imaju veći rizik za razvoj duodenalnog ulkusa, a oni koji boluju od korpusnog

gastritisa u većem su riziku od obolijevanja od peptičnog ulkusa, intestinalne metaplazije i raka želuca (57).

1.4.2. *H. pylori* i gastroduodenalni ulkusi

Kronični ulkus može se pojaviti u želucu ili duodenumu. Zahvaća sluznicu, podsluznicu i mišićni sloj želuca ili duodenuma. Želučani je ulkus nešto rjeđi od duodenalnog, uglavnom se nalazi u antrumu želuca. Javlja se pojedinačno, okruglog je oblika. Duodenalni ulkus većinom je smješten nekoliko centimetara od distalnog kraja pilorusa. Otprilike 90% do 95% duodenalnih i 70% do 75% želučanih ulkusa povezano je s infekcijom *H. pylori* (71). Dokazano je da su recidivi ulkusa duodenuma znatno rjeđi u onih bolesnika kod kojih je eradiciran *H. pylori* tijekom 5 godina nakon liječenja infekcije (72). Ulkusna bolest ne mora biti nužno povezana s infekcijom *H. pylori*, može ju uzrokovati i uporaba nesteroidnih protuupalnih lijekova. Također može biti povezana s oblicima stresa i pušenjem. Značajni dio ulkusa uzrokovan je s više istovremeno prisutnih rizičnih čimbenika. Duodenalni ulkusi javljaju se u mlađoj životnoj dobi nego želučani i povezani su s pojačanim lučenjem kiseline. Osobe koje boluju od duodenalnog ulkusa imaju povećan broj i aktivnost parijetalnih stanica koje pojačano luče kiselinu. Pojačano je i oslobađanje gastrina koji također pridonosi pojačanom lučenju kiseline. *H. pylori* sadrži endopeptidazu koja probavlja sluz i uzrokuje smanjenje viskoznosti same sluzi te tako olakšava prodiranje želučanog sadržaja do sluznice. Sve to dovodi do ozljede same sluznice i stvaranja duodenalnog ulkusa. Želučani se ulkusi uglavnom nalaze kod pacijenata sa smanjenim lučenjem kiseline u želucu, pa je za nastanak tih ulkusa odgovorno smanjeno lučenje bikarbonata u sluznici, upalni odgovor što ga uzrokuje *H. pylori* i toksini koje on luči (73,74). Gastroduodenalni ulkusi mogu dovesti do ozbiljnih komplikacija kao što su krvarenje iz probavnog sustava ili perforacija crijeva. Takve komplikacije su sve češće. Korištenje nesteroidnih protuupalnih lijekova povećava mogućnost krvarenja ulkusa za 1.79 puta, a infekcija *H. pylori* za 4.83 puta. Krvarenje je 6.13 puta češće ako su prisutna oba čimbenika (75).

1.4.3. *H. pylori* i MALT limfomi

MALT limfom (engl. Mucosa associated lymphoid tissue) je limfom marginalne zone. Limfomi marginalne zone su treća najčešća vrsta B staničnog ne-Hodgkinovog limfoma. Razviju se

u folikulima B stanica u organima koji su često izloženi djelovanju antigena, kao što su slezena i limfni čvorovi mezenterija. MALT limfomi se razlikuju od ostatka limfoma marginalne zone jer se razviju u organima u kojima se inače ne nalazi limfno tkivo, ali su se nakupile B stanice zbog autoimunog odgovora ili kronične upale. MALT limfom je najčešći limfom gastrointestinalnog sustava, a više od 85% gastrointestinalnih MALT limfoma nalazi se u želucu (76). Nastanak MALT limfoma često je povezan s infekcijom bakterijom *H. pylori*. Više od 90% ljudi oboljelih od MALT limfoma također je zaraženo *H. pylori*. Simptomi koji se vežu uz MALT limfome su dispepsija, okultno krvarenje, bolovi u trbuhu, često i gubitak tjelesne težine. Dijagnosticira se endoskopijom i biopsijom. Limfom se najčešće nalazi u antrumu želuca. Endoskopski se može vidjeti ulkus u 40%, noduli u 30%, a pseudogastritis u 25% slučajeva (77). Uz pravodobno liječenje prognoza bolesti je iznimno dobra, s desetogodišnjim preživljenjem višim od 95% (78). Ako je bolest otkrivena u prvom ili drugom stadiju, sama eradikacija *H. pylori* dovodi do izlječenja u 77.5% pacijenata (78). Pacijenti kod kojih je limfom i dalje prisutan pojačano se nadziru uz redovne endoskopske biopsije. Za lokalizirane limfome prvog i drugog stadija koji nisu nestali eradikacijom *H. pylori* preporučuje se radioterapija. U trećem i četvrtom stadiju kemoterapija je terapija izbora.

1.4.4. *H. pylori* i karcinom želuca

Karcinom želuca ima četvrtu najveću incidenciju i drugu najveću smrtnost među karcinomima na svijetu. Svake godine otprilike 990 000 ljudi oboli od karcinoma želuca, a 738 000 umire (57,59). Više od 90% karcinoma želuca su adenokarcinomi koji se razviju unutar stanica žlijezdanog tkiva želuca. Postoji više rizičnih čimbenika koje vežemo uz pojavu karcinoma želuca. Jedan od rizičnih čimbenika je dob osobe, a incidencija karcinoma raste progresivno s dobi. Muškarci obole češće nego žene. Incidencija je veća kod pušača u usporedbi s nepušačima. Učestalost je veća kod ljudi slabijeg socioekonomskog statusa i onih koji jedu puno dimljene i slane hrane. Rizični čimbenici su još i: mali unos voća i povrća, konzumiranje nesteroidnih protuupalnih lijekova, pretilost i smanjena fizička aktivnost. Karcinom distalnog dijela želuca usko je povezan s infekcijom *H. pylori.* Bakterija uzrokuje kroničnu upalu želučane sluznice, s vremenom žlijezde u želucu atrofiraju i nastane atrofični gastritis koji je dalje povezan s intestinalnom metaplazijom i naposljetku displazijom i adenokarcinomom – tzv. Correa kaskada (79). Simptomi se ne javljaju u ranim stadijima bolesti i zato se karcinom najčešće otkrije u već kasnoj fazi bolesti. Simptomi zbog

kojih se pacijent obrati liječniku su anoreksija, dispepsija i abdominalna bol. Dijagnoza se postavlja endoskopijom s biopsijom, a stadij bolesti odredi se endoskopskim ultrazvukom i kompjuterskom tomografijom (CT-om) prsnog koša i abdomena. Liječenje je kirurško, razlikuje se ovisno o histološkom tipu, promjeru, lokaciji i stadiju tumora, najčešće uz kemoterapiju.

1.4.5. *H. pylori* i gastroezofagealna refluksna bolest

Gastroezofagealna refluksna bolest (GERB) javlja se nakon česte i dugotrajne izloženosti sluznice jednjaka želučanoj kiselini zbog neadekvatnog funkcioniranja donjeg ezofagealnog sfinktera i usporenog pražnjenja želuca koji su uzrokovani parasimpatičkom disfunkcijom. Povezanost između GERB-a i infekcije *H. pylori* stvar je rasprava. Razvoj GERB-a ovisi o lučenju kiseline unutar želuca. Ako *H. pylori* izazove gastritis u korpusu želuca, on dovodi do smanjenog lučenja kiseline i tako smanjuje i incidenciju GERB-a. Eradikacija *H. pylori* mogla bi dovesti do povećanog lučenja kiseline i pridonijeti nastanku ezofagitisa i GERB-a. S druge strane antralni gastritis dovodi do pojačanje sekrecije kiseline i povećava rizik oboljenja od GERB-a. Eradikacija *H. pylori* u ovom slučaju mogla bi poboljšati ili ne utjecati na ezofagitis (80).

1.5. *H. pylori* i izvanželučane bolesti

H. pylori dovodi se u vezu i s brojnim drugim, izvanželučanim oboljenjima, što uglavnom još uvijek nije dovoljno razjašnjeno. Naime, istraživana je povezanost *H. pylori* s različitim metaboličkim, kardiovaskularnim, neurološkim, hepatobilijarnim, alergijskim te autoimunim oboljenjima (81,82). Odnos navedenih bolesti pa tako ni potreba za testiranjem na *H. pylori* infekciju nije jasno definiran.

Tako je primjerice sustavni pregled istraživanja populacije u Kini pokazao je da je *H. pylori* potencijalni rizični čimbenik za pretilost (83). Analiza 35 studija dokazala je značajno više razine glikoziliranog hemoglobina kod bolesnika s *H. pylori* infekcijom u odnosu na neinficirane (84). Pozitivni CagA *H. pylori* sojevi povezuju se s razvojem ateroskleroze (85). Štoviše, pojedini autori izravno povezuju *H. pylori* s razvojem akutnog koronarnog sindroma u zemljama u razvoju (86). *H.*

pylori predmet je istraživanja i u kontekstu nealkoholne masne bolesti jetre (engl. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD*) te dosadašnje spoznaje pokazuju povišenu učestalost navedene bolesti jetre kod inficiranih bolesnika (87). Nadalje, pojedina istraživanja ukazuju na moguću povezanost *H. pylori* infekcije te određenih neuroloških oboljenja kao što su moždani udar, Alzheimerova bolest, idiopatska Parkinsonova bolest (88-90). Povezanost *H. pylori* infekcije i upalnih bolesti crijeva jest kontroverzna. Prvotna istraživanja ukazivala su da je *H. pylori* vjerojatni faktor rizika za razvoj upalne bolesti crijeva (91). Štoviše, raširen je stav kako antibiotska terapija koja se koristi u eradikaciji *H. pylori* infekcije utječe na želučanu mikrobiotu, ali posredno i na imunološku homeostazu te se time stvara podloga za autoimuna i alergijska oboljenja (92). Međutim, novija saznanja govore u prilog moguće protektivne uloge *H. pylori* kada je u pitanju odnos s upalnim bolestima crijeva, vjerojatno kao posljedica imunomodulatornog učinka (93). Postoje mnoge ekstragastrične bolesti za koje se navodi korelacija s infekcijom *H. pylori*. Međutim, većina dokaza proizlazi iz epidemioloških studija u kojima brojni zbunjujući čimbenici nisu adekvatno analizirani, što onemogućuje utvrđivanje uzročno-posljedične veze. Stoga, trenutačno i u skladu s nacionalnim i europskim smjernicama (Maastricht V / Florence smjernice) o liječenju infekcije *H. pylori*, infekciju treba tražiti i, ako je prisutna, iskorijeniti samo u bolesnika s ITP i nedostatkom vitamina B12 (3).

1.5.1. *H. pylori* i neurološke bolesti

Iako neke studije izvještavaju o povezanosti između infekcije *H. pylori,* posebno za sojeve pozitivne na CagA, i moždanog udara, prospektivna kohortna analiza provedena 2013. kao dio NHANES III na 9.885 osoba s moždanim udarom ne samo da nije pronašla povećanje smrtnosti, nego je izvijestila o nižoj smrtnosti u ispitanika s infekcijom *H. pylori* u usporedbi s ostatkom populacije (94). Drugi su autori pokazali da su infekcija i prisutnost CagA-pozitivnih sojeva značajni čimbenici rizika za ishemijski moždani udar (95). Razlike u proučavanoj populaciji i u metodama utvrđivanja prisutnosti bakterije mogu djelomično objasniti neslaganja između studija. Patogenetski mehanizmi nisu jasni, ali postoji hipoteza da *H. pylori* povećava ekspresiju medijatora upale i aktivira trombocite i čimbenike koji sudjeluju u zgrušavanju (96).

Mnoge studije su istraživale korelaciju između infekcije *H. pylori* i Alzheimerove bolesti. Huang je izvijestio o 1,6 puta većem riziku od razvoja Alzheimerove bolesti u zaraženih nego u neinficiranih subjekata, što ukazuje na moguću ulogu bakterije u patofiziologiji ove bolesti (97).

Roubaud Baudron izvještava o 1,5 puta većem riziku od razvoja demencije tijekom 20 godina praćenja u inficiranih ispitanika u usporedbi s neinficiranim (98). Beydoun je izvijestio o povezanosti između infekcije *H. pylori* i smanjenih kognitivnih sposobnosti (99). Druge studije također pokazuju da iskorjenjivanje bakterije može imati pozitivan utjecaj na manifestacije Alzheimerove bolesti (100). Do danas je postavljeno nekoliko hipoteza koje objašnjavaju povezanost između bakterije i Alzheimerove bolesti. Jedna hipoteza je da *H. pylori* može pristupiti mozgu oralno-nazalno-olfaktornim putem, izazivajući neurodegeneraciju (101). Druga hipoteza je da *H. pylori* može pristupiti mozgu kroz monocite zaražene samom bakterijom, kroz promijenjenu krvno-moždanu barijeru: to može potaknuti povećanje proizvodnje upalnih medijatora kao što je TNF-alfa, što zauzvrat može doprinijeti uništavanju barijere krv -mozak djelovanjem metaloproteinaza (102). Treća hipoteza je da bakterija može brzo pristupiti mozgu putem retrogradnog neuralnog puta iz gastrointestinalnog trakta, što dovodi do neurodegeneracije (103). Međutim, ne potvrđuju sve studije povezanost infekcije i Alzheimerove bolesti.

Za Parkinsonovu bolest postoji nekoliko nalaza o povezanosti s infekcijom *H. pylori* (104). Meta-analiza iz 2017., koja je uključivala osam studija s ukupno preko 33 000 sudionika, pokazala je da infekcija *H. pylori* može biti čimbenik rizika za Parkinsonovu bolest (105). Huangova studija objavljena 2018., provedena na općoj populaciji Tajvana je pokazala da je infekcija značajno povezana s povećanim rizikom od Parkinsonove bolesti samo kod osoba starijih od 60 godina (106). Prema nekim autorima, infekcija *H. pylori* može smanjiti bioraspoloživost L-3,4-dihidroksifenilalanina (L-dopa, koji se koristi u liječenju Parkinsonove bolesti), kroz upalu sluznice dvanaesnika, koja je mjesto apsorpcije L. -DOPA (107). Zapravo, čini se da je iskorjenjivanje infekcije povezano s većom bioraspoloživošću L-DOPA i boljim kliničkim ishodima (108). Pretpostavlja se da proupalni citokini povezani s kroničnom gastroduodenalnom bolešću mogu inducirati upalu mozga uništavanjem krvno-moždane barijere i propadanjem dopaminergičkih neurona te u konačnici mogu biti odgovorni za parkinsonizam. Korelacija između infekcije *H. pylori* i multiple skleroze je još uvijek kontroverzna s podacima u literaturi koji su kontradiktorni. Međutim, postoje eksperimentalni dokazi: na primjer, čini se da je infekcija čimbenik rizika za razvoj anti-akvaporin 4 protutijela (AQP4) multiple skleroze, kroz molekularnu mimikriju između AQP4 i AQP bakterije (109).

Guillain-Barréov sindrom je akutna autoimuna neuropatija koju karakterizira progresivna paraliza udova s distalno-proksimalnim uzorkom (prvo su zahvaćene noge, a zatim ruke). Može uzrokovati komplikacije opasne po život, osobito ako su zahvaćeni dišni mišići ili autonomni živčani sustav. U podrijetlu bolesti obično je infekcija. Campylobacter jejuni, prevladavajući

uzročnik bakterijskog gastroenteritisa, povezan je s Guillan-Barrèovim sindromom, a mogući patogenetski mehanizam uključuje molekularnu mimikriju između gangliozida perifernih živaca i lipopolisaharida (LPS) C. jejuni (sijalna kiselina, karakteristična komponenta ljudskih gangliozida, prisutna je među površinskim antigenima bakterije). *H. pylori* ima LPS sekvencu visoke molekularne težine koja je pronađena u jednoj trećini serotipova C. jejuni. Stoga, molekularna mimikrija između antigena *H. pylori* i gangliozida perifernih živaca može biti odgovorna za povezanost infekcije ovom bakterijom i Guillan-Barrè sindroma. Neki autori su pokazali da je prisutnost protutijela na *H. pylori* bila značajno veća u serumu bolesnika s Guillan-Barrè sindromom nego u kontrolnoj skupini i da je CFS bio pozitivan na ta antitijela u 80 posto bolesnika i samo 20 posto kontrola (110). Druga studija pokazuje prisutnost IgG protiv VacA citotoksina *H. pylori* u cerebrospinalnoj tekućini pacijenata s Guillan-Barréovim sindromom i sugerira da se takva antitijela mogu vezati na ionske kanale u Schwannovim stanicama, što dovodi do demijelinizacije motornih neurona u ovih bolesnika (111). Ovo su studije na malim uzorcima pacijenata, stoga su potrebna ispitivanja na većim uzorcima kako bi se pokazala stvarna povezanost između bakterije i Guillan-Barrè sindroma.

1.5.2. *H. pylori* i kardiovaskularne bolesti

Prvo izvješće o korelaciji između infekcije *H. pylori* i kardiovaskularne bolesti napravio je Mendall, koji je 1994. u prospektivnoj studiji opisao značajnu povezanost između ove infekcije i razvoja koronarne bolesti srca kod muškaraca između 45 i 65 godina starosti. (112). Nedavno je razvijena hipoteza da infektivni čimbenici mogu igrati ulogu u patogenezi koronarne bolesti srca. Chenova studija objavljena 2015. godine pokazala je da infekcija *H. pylori* povećava rizik od akutne koronarne bolesti srca čak i u odsutnosti (ili nakon uklanjanja) čimbenika rizika (113).

Najvjerojatnija uloga bakterije u patogenezi koronarne bolesti povezana je s njezinom sposobnošću da izazove trajno kronično upalno stanje u želučanoj sluznici koje može imati i sistemske upalne učinke. U želucu, toksin VacA i ureaza doprinose uništavanju čvrstih spojeva između epitelnih stanica želuca i tako mogu dopustiti bakterijskim agensima da dođu u kontakt sa stanicama imunološkog sustava. Antigeni H. pylori mogu izravno komunicirati s vaskularnim endotelom i stvarati komplekse s LDL/oxLDL kolesterolom (114). Hipotezu o upali potvrđuju brojne studije koje su istraživale povezanost povećanja upalnih biljega kao što su C-reaktivni protein (CRP), interleukin 6 i TNF-α te koronarne bolesti srca (115). Druga hipoteza je da antigeni

H. pylori mogu inducirati ekspanziju B i T stanica i uzrokovati proizvodnju samoreaktivnih antitijela kroz fenomen molekularne mimikrije (116). Analiza literature pokazuje da je nalaz serumskih anti-toksin CagA protutijela usko povezan sa srčanim bolestima, uključujući aterosklerozu, nestabilnu anginu, sindrom X i koronarnu bolest (117). CagA je najvažniji faktor virulencije *H. pylori* i CagA-pozitivni sojevi povezani su s povećanjem proizvodnje IL-8, koji je biljeg upale (118).

Podaci o povezanosti infekcije *H. pylori* i infarkta miokarda su neskladni. Ikeda je pokazao da su samo CagA-pozitivni sojevi povezani s povećanim rizikom od infarkta miokarda (119). Meta-analiza 26 studija koje su uključivale preko 20 000 pacijenata pokazala je postojanje značajne povezanosti između infekcije *H. pylori* i rizika od infarkta miokarda (120). Međutim, do danas u literaturi nema dovoljno podataka da bi se moglo definirati *H. pylori* kao uzročnika kardiovaskularnih bolesti.

1.5.3. *H. pylori* i metaboličke bolesti

Nedavno je sugerirana povezanost između infekcije *H. pylori* i dijabetes melitusa, ali se još uvijek čini nejasnom. Studija na kineskoj populaciji pokazala je da su povišene razine glikiranog hemoglobina (HbA1c) značajno povezane s infekcijom *H. pylori* u ispitanika starijih od 65 godina (121). Bégué je izvijestio da bi iskorjenjivanje bakterije u bolesnika s dijabetesom mellitusom tipa 1 moglo biti povezano s boljom kontrolom glikemije (procijenjeno s trendom HbA1c) u dvije godine nakon eradikacije infekcije (122).

Neke studije su također procijenile komplikacije povezane s dijabetesom mellitusom. Wang je opisao moguću korelaciju između infekcije *H. pylori* i rizika od nefropatije ili neuropatije u azijskoj populaciji (123). Prijavljeno je da postoji povezanost između mikroalbuminurije u dijabetičara i infekcije *H. pylori* (124), a posebno u CagA pozitivnih pacijenata. Podaci u literaturi pokazuju da eradikacija *H. pylori* može poboljšati inzulinsku rezistenciju (125); međutim drugi autori ne potvrđuju ove podatke (126). Nekoliko studija pokazalo je veću prevalenciju metaboličkog sindroma u bolesnika s *H. pylori* (127). Neki su autori istaknuli promjene u lipidnom profilu povezane s upalom niskog stupnja uzrokovanom bakterijom i pokazali da te promjene u serumskim lipidima mogu potaknuti aterogene procese (128). Niemelä i suradnici, u finskoj populacijskoj studiji, pokazali su više razine kolesterola i triglicerida u muškaraca s infekcijom *H. pylori* (129).

1.5.4. *H. pylori* i hepatobilijarne bolesti

Nedavne studije pokazuju povezanost između nealkoholnog steatohepatitisa (NAFLD) i infekcije *H. pylori* (130). Polyzos je istaknuo prisutnost visokih razina protutijela IgG anti-*H. pylori* u serumu bolesnika s NAFLD-om u usporedbi s kontrolnim ispitanicima bez bolesti jetre i pronađene niske razine cirkulirajućeg adiponektina u istih bolesnika (131). Nedostatak adiponektina povezan je s proupalnim stanjem uključenim u etiopatogenezu NAFLD-a, a koje se također opaža kod pretilosti i drugih metaboličkih poremećaja. Hipoteza je da je *H. pylori* može biti u korelaciji s pogoršanjem upalnog stanja jetre, bez obzira na etiologiju osnovne bolesti (132); zbog povećane propusnosti želučane i crijevne sluznice, antigeni bakterije mogli bi ući u krvotok i kroz portalnu venu dospjeti u jetru, uzrokujući oštećenje jetre (133). Sumida sugerira da eradikacija *H. pylori* može imati važnu ulogu u liječenju nealkoholnog steatohepatitisa (NASH) kroz smanjenje TNF-α koji je, zajedno s drugim proupalnim citokinima kao što su IL-1β, IL-6 i IL-8, u izravnoj korelaciji s etiopatogenezom NASH i inzulinske rezistencije (134).

Uloga *H. pylori* u karcinogenezi jetre je kontroverzna. Pojedine studije ukazuju na veću prevalenciju *H. pylori* u bolesnika s hepatokarcinomom (135). Esmat sugerira da infekcija CagA pozitivnim sojevima *H. pylori* može igrati važnu ulogu u napredovanju od kroničnog hepatitisa do ciroze i hepatocelularnog karcinoma (136). Međutim, trenutno nema dovoljno dokaza da se donese čvrst zaključak o odnosu između bakterije i bolesti jetre.

1.5.5. *H. pylori* i hematološke bolesti

Kronična primarna autoimuna trombocitopenija, ranije nazvana idiopatska trombocitopenična purpura, poremećaj je imunološkog sustava karakteriziran izoliranom idiopatskom trombocitopenijskom purpurom u odsutnosti drugih uzroka. Mnoge studije u literaturi izvijestile su o povezanosti između infekcije *H. pylori* i idiopatske trombocitopenične purpure te značajnog povećanja broja trombocita nakon eradikacije infekcije, s postocima u rasponu od 32 do 100 posto prema europskim autorima (137). Patogeneza idiopatske trombocitopenične purpure povezane s infekcijom *H. pylori* najvjerojatnije je multifaktorska.

Vitamin B12 je koenzim mnogih enzimskih reakcija koje dovode do sinteze DNA i njegov kronični nedostatak može uzrokovati perniciozu anemiju, perifernu neuropatiju i ozljedu leđne moždine. Lahner i suradnici pokazali su povezanost između niske razine vitamina B12 u serumu i

infekcije *H. pylori* u sustavnom pregledu 17 studija koje su uključivale ukupno 22 454 bolesnika (138). Patofiziološki mehanizam povezanosti između nedostatka vitamina B12 i infekcije *H. pylori* nije jasan. Apsorpcija vitamina B12 može biti poremećena kod prevladavajućeg gastritisa želuca uzrokovanog infekcijom.

1.5.6. *H. pylori* i dermatološke bolesti

Rosacea, kronični dermatitis lica karakteriziran eritemom i telangiektazijama, kožna je manifestacija koja se najčešće povezuje s infekcijom *H. pylori.* Argenziano je prijavio infekciju *H. pylori* u 48,9 posto bolesnika s rozaceom, naspram 26,7 posto kontrola, te djelomičnu ili potpunu regresiju dermatoze nakon eradikacije bakterije u 96,6 posto bolesnika (139). Drugi su autori izvijestili o infekciji *H. pylori* u 81 posto ispitanika s rozaceom i u velikoj većini slučajeva radilo se o CagA-pozitivnim sojevima (140). Iako je korelacija između infekcije *H. pylori* i rosacee još uvijek predmet rasprave, rezultati dosadašnjih studija sugeriraju potencijalnu ulogu testiranja i iskorjenjivanja bakterije kod pacijenata s ovim dermatitisom.

Psorijaza je autoimuna upalna bolest kože, obično kronična i ponavljajuća. Njena povezanost s infekcijom *H. pylori* je kontroverzna. U prilog uzročnoj ulozi bakterije govori studija Onsuna koja je pokazala da je iskorjenjivanje bakterije dovelo do bržeg poboljšanja od liječenja drugim sredstvima (141).

Podaci o povezanosti alopecije areate i infekcije *H. pylori* su neskladni, pri čemu autori navode visoku prevalenciju infekcije, a drugi ne potvrđuju povezanost (142). Kako bi se dobili točniji dokazi o tim korelacijama, bile bi potrebne kontrolirane studije na većim populacijama.
Autoimune bulozne bolesti su skupina dermatoloških poremećaja koji uključuju pemfigus, pemfigoid, stečenu bulozu epidermolize, herpetiformni dermatitis i linearnu IgA buloznu dermatozu. Nekoliko studija je istraživalo povezanost ovih bolesti i *H. pylori*, što pokazuje visoku prevalenciju infekcije u ispitanika s ovim dermatološkim bolestima (143).

Schönlein-Henoch purpura je autoimuno stanje karakterizirano taloženjem IgA u koži i drugim organima, kao što su bubrezi, zglobovi i gastrointestinalni trakt. Početak bolesti karakterizira pojava ljubičastih lezija na koži. Samo nekoliko studija podupire povezanost između SHP i infekcije *H. pylori* i pokazuje poboljšanje lezija nakon eradikacije bakterije (144). Potrebna su veća klinička ispitivanja prije nego što se donesu bilo kakvi zaključci o ovoj korelaciji.

1.5.7. *H. pylori* i alergijske bolesti

Dvije meta-analize u literaturi izvijestile su o zaštitnoj ulozi infekcije *H. pylori* protiv astme, osobito u djece i mladih ljudi s ranom pojavom alergija (145,146). *H. pylori* može zaštititi od bronhijalne hiperaktivnosti, bronhoalveolarne eozinofilije i upale pluća. Zaštita uvelike ovisi o regulatornim T limfocitima (Treg), a ugrožena je potpunim eradikacijom infekcije.

Prilikom analize povezanosti infekcije *H. pylori* s alergijama treba uzeti u obzir i tzv. higijensku hipotezu i smanjenu prevalenciju alergijskih bolesti među onima koji posjeduju kućne ljubimce. Kao što je poznato, infekcija *H. pylori* povezana je s lošim sanitarnim uvjetima, prenapučenošću i niskom socio-ekonomskom razinom. Ova stanja, kao i posjedovanje kućnih ljubimaca, mogu izložiti pojedince bakterijama ili antigenima koji mogu smanjiti rizik od alergijskih bolesti. Stoga, u tumačenju studija o korelaciji između *H. pylori* i alergija, potrebno je razmotriti niz mogućih zbunjujućih čimbenika prije nego što se izvuku zaključci o navodnim uzročno-posljedičnim korelacijama.

1.6. Dijagnostika *H. pylori* infekcije

Razvijene su mnoge dijagnostičke metode visoke specifičnosti i osjetljivosti koje služe za detekciju *H. pylori* infekcije. Odabir metode ovisi o dostupnosti testa, opremljenosti laboratorija i kliničkom stanju pacijenta. Testove dijelimo u dvije skupine: neinvazivni dijagnostički testovi i invazivni dijagnostički testovi. Neinvazivni testovi uključuju ureja izdisajni test, nalaz antigena u stolici,serologiju i lančanu reakciju polimerazom. U invazivne dijagnostičke metode ubrajaju se endoskopija, histologija, brzi ureaza test i izolacija. Na velikoj *Maastricht V/Florence* konferenciji 2015. godine ažurirane su smjernice za dijagnostiku *H. pylori*. Kod mladih pacijenata s dispepsijom koristi se takozvana *„testiraj i tretiraj“* strategija. Prvo se provede neinvazivno testiranje, a zatim liječenje infekcije. Takva strategija je jeftinija i manje neugodna pacijentu od korištenja invazivnih testova. Strategija *„endoskopiraj i tretiraj“* koristi se kod pacijenata s alarmantnim simptomima poput gubitka težine, disfagije, krvarenja, anemije i palpacije abdominalne mase. Ta strategija primjenjuje se i kod starijih ljudi kod kojih su neinvazivni testovi manje točni. Općenito, preporuka je izostaviti inhibitore protonske pumpe iz terapije u trajanju od dva tjedna prije testiranja na *H. pylori* infekcije, budući da navedena terapija može dovesti do lažno negativnog nalaza kod brzog ureaza testa, antigenskog testa iz stolice te ureja izdisajnog testa (147). Prema sadašnjim

spoznajama, antagonisti H_2 receptora imaju minimalni učinak na osjetljivost testova na *H. pylori*, budući da ne pokazuju anti-*H. pylori* aktivnost (148). Antibiotike, kao i pripravke bizmuta, potrebno je isključiti četiri tjedna prije planiranog testiranja na *H. pylori* infekciju (149). Zaključno, ureja izdisajni test smatra se optimalnom metodom za potvrdu dijagnoze *H. pylori* infekcije, kao i za potvrdu eradikacije. Kao alternativna, neinvazivna metoda može poslužiti antigenski test iz stolice temeljen na monoklonskim protutijelima. Zlatni standard u izravnoj dijagnostici *H. pylori* infekcije ostaje histološka metoda, prvenstveno zato jer daje dodatni uvid u stupanj oštećenja želučane sluznice.

1.6.1. Neinvazivni dijagnostički testovi

Ureja izdisajni test često se smatra zlatnim standardom u dijagnostici *H. pylori* infekcije. Ovaj test, koji se široko koristi u kliničkoj praksi, relativno je jednostavan i s najnovijim metodama može se brzo izvesti. Do sada su bezbrojne studije potvrdile njegovu visoku osjetljivost i specifičnost na oko 95%. Test se bazira na činjenici da *H. pylori* proizvodi ureazu koja razgrađuje ureju na amonijak i ugljični dioksid. Pacijent popije otopinu ureje s izotopom ugljika ^{13}C ili ^{14}C koju onda ureaza razgradi ako je Helicobacter prisutan. Oslobođeni radioaktivni $^{13}CO_2$ ili $^{14}CO_2$ prelazi prvo u krvotok, zatim u pluća gdje se mjeri u izdisaju 20 minuta nakon unosa ureje u organizam. ^{13}C je izotop ugljika koji nije radioaktivan te se može koristiti u dijagnostici kod djece i trudnica. Standardni test koristi 75 mg ureje ili 15 mg uz konzumaciju soka od naranče. Ureja izdisajni test koristi se u dijagnostici infekcije i za provjeru stanja nakon eradikacije infekcije. Test ima visoku specifičnost i visoku osjetljivost, no mogu se javiti i lažno pozitivni rezultati u prisutnosti drugih mikroorganizama koji proizvode ureazu u želucu čovjeka. Budući da je test ovisan o aktivnosti ureaze na njega s jedne strane utječe prisutnost drugih bakterija sa sličnom metaboličkom aktivnošću u usnoj šupljini ili u želucu te mnogo važnije, broj *H. pylori* bakterija prisutnih u želucu. To objašnjava nalaz smanjenja osjetljivosti od oko 30% u *H. pylori* pozitivnih ispitanika tijekom liječenja lijekovima inhibitorima protonske pumpe (150). U tim okolnostima, ponovna pozitivizacija testa zahtijeva približno 14 dana suspenzije lijeka. Slično, osjetljivost se smanjuje u drugim situacijama u kojima se smanjuje gustoća bakterije u želučanoj sluznici, kao što je to u slučaju atrofičnog gastritisa i ponekad uz pojavu MALT limfoma. Jedna od mogućnosti povećanja snage testa sastoji se u uvođenju, zajedno s markiranom ureom, natrijevog citrata, koji

izaziva povećanje aktivnosti ureaze. Kliničke situacije koje smanjuju korištenje testa uglavnom se odnose na lošu suradnju pacijenata (djeca, starije osobe, druge psihičke situacije).

Kod ljudi koji se liječe inhibitorima protonske pumpe (IPP) mogu se javiti lažno negativni rezultati, kao i kod ljudi koji su zaraženi metabolički neaktivnim kokoidnim oblikom *H. pylori.* Osjetljivost je niža kod pacijenata koji su operirali želudac i koji se liječe lijekovima koji neutraliziraju pH želudca (151).

Brzi antigenski test u stolici koristi se kada ureja izdisajni test nije dostupan. Test ne zahtijeva korištenje skupe opreme, a uzorak stolice može se skupiti kod kuće i nema potrebe za odlazak u bolnicu, što je posebno povoljno za dijagnosticiranje infekcije kod djece (152). Postoje dvije vrste brzih antigenskih testova stolice za dijagnozu *H. pylori* infekcije. Prvi je enzimski imunotest baziran na monoklonalnim antitijelima, a drugi je imunokromatografski test. Koriste se za postavljanje dijagnoze infekcije i također za procjenu stanja nakon provedene terapije. Često se koriste u masivnim probirima i istraživanja jer su jeftini i jednostavni. Ograničenja primjene testa mogu biti u svim onim okolnostima koje otežavaju prikupljanje uzorka stolice. Točnost rezultata testa može biti niža ako je uzorak stolice vodenast i kod pacijenata s krvarenjem u gornjem dijelu gastrointestinalnog sustava (153).

Niska cijena, jednostavnost korištenja, izvedivost kućnog prikupljanja, progresivno su proširili korištenje ove metode. Temelji se na poliklonskim ili, u novije vrijeme, monoklonskim metodama imunotestiranja. Njegova osjetljivost i specifičnost tek su malo niže od one kod UBT-a, za 91 odnosno 93% (pregled 89 studija) (154). Međutim, treba naglasiti važnost pravilnog prikupljanja i skladištenja uzoraka jer osjetljivost testa pada na 69% ako se uzorak drži na sobnoj temperaturi 48-72 sata.

Kao i kod UBT, na pozitivnost za HpSa može utjecati kontinuirano krvarenje iz gastrointestinalnog trakta, prisutnost atrofičnog gastritisa ili uporaba lijekova inhibitora protonske pumpe. Prijavljeno je da prisutnost relativno većeg broja lažno pozitivnih nakon eradikacijske terapije, može ograničiti njegovu upotrebu zbog niske pozitivne prediktivne vrijednosti (69% naspram 95% UBT) (155). Ovi podaci, koji nisu potvrđeni drugim studijama, nisu doveli do ograničavanja njegove uporabe u praćenju nakon terapije čak ni u najnovijim smjernicama

Danas postoji nekoliko vrsta seroloških testova koji se koriste za identifikaciju *H. pylori* antitijela. Većina testova detektira IgG protutijela. Serološki testovi su jeftini i lako dostupni.

Najčešće vrste testova koji se koriste su ELISA (engl. *The enzyme-linked immunosorbent assay*), imunokromatografija i *Western blotting*. Antitijela mogu ostati prisutna u organizmu i godinama nakon eradikacije *H. pylori* te se serologija zato ne može koristiti za potvrdu izlječenja infekcije. Burucoa i suradnici su 2013. godine proveli komparativno ocjenjivanje 29 komercijalno dostupnih seroloških testova (156). Osjetljivost ispitanih testova varirala je između 57.8% i 100%, a specifičnost između 57.4% i 97.9%. Četiri testa pokazala su odlične rezultate s osjetljivošću i specifičnošću iznad 90%. Testirani su i brzi testovi uz pacijenta (engl. *Near patient test, NPT*) koji se provode na slini, krvi ili mokraći i daju brze rezultate. Zbog heterogenih i općenito lošijih rezultata NPT testova ne preporučuje se njihovo korištenje u dijagnostičke svrhe. Trenutno se najviše koriste i preporučuju testovi temeljeni na ELISA metodi čija se osjetljivost procjenjuje na oko 80%, sa specifičnošću između 86 i 98%. Međutim, treba napomenuti relativno veliko sivo područje pozitivnosti (oko 12%) i poteškoće u razlikovanju tekuće infekcije od ranije, što ograničava njezinu korisnost u praćenju učinkovitosti eradikacijske terapije. Međutim, serološki testovi zadržavaju važnu ulogu u situacijama u kojima drugi invazivni i neinvazivni testovi pokazuju manju osjetljivost. Konkretno, serološka pretraga je još uvijek indicirana u ispitanika koji se liječe sa IPP, s krvarećim peptičkom ulkusom, s atrofičnim gastritisom ili MALT limfomom. U pedijatrijskoj dijagnostici također se koristi ispitivanje seruma ili sline anti HP antitijela. Konačno, treba imati na umu dostupnost brzih kompleta za ambulantnu upotrebu, no čija je osjetljivost mnogo niža od ELISA metoda i čija je točnost slaba.

Lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase Chain Reaction, PCR*) je metoda koja se temelji na amplifikaciji nukleinskih kiselina. Ona omogućuje dokazivanje *H. pylori* u uzorcima s malim brojem bakterija. Danas je osim standardnog dostupan i modificirani *real-time* (RT) PCR. RT PCR pokazao je superiorne rezultate u detekciji *H. pylori* u odnosu na druge metode kod bolesnika koji uzimaju inhibitore protonske pumpe (157). Osim uzorka želučane sluznice, kao uzorak može poslužiti i slina te stolica. Test ne mora nužno biti invazivan. Test je brz, ali ograničen dostupnošću i cijenom, a mogući su i lažno pozitivni rezultati zbog detekcije DNA mrtvih bakterija nakon uspješne eradikacije. Također, pogodan je za detekciju *H. pylori* kod gastrointestinalnog krvarenja (158). Posebna vrijednost PCR metode očituje se i u mogućnosti detekcije rezistencije na pojedine antibiotike kao i u distinkciji sojeva različite rezistencije na antibiotike. U regijama visoke rezistencije na klaritromicin, real-time PCR iz stolice može se koristiti kod mlađih bolesnika, kod kojih nije indiciran endoskopski pregled, a planirana je terapija koja uključuje klaritromicin (159).

1.6.2. Invazivni dijagnostički testovi

Endoskopija je invazivna metoda detekcije infekcije *H. pylori* koja se često koristi u populacijama s niskom prevalencijom infekcije. Napretkom tehnologije razvijeni su inovativni endoskopi visoke rezolucije koji omogućuju direktan uvid u mikrostrukturu sluznice želuca i smanjuju potrebu za biopsijom. Specifičnost i osjetljivost otkrivanja gastritisa tijela želuca ovom metodom veća je od 90% (160). Razvitkom konfokalne laserske endomikroskopije omogućena je *in vivo* histologija želuca. Ova metoda kombinira standardnu video endoskopiju s mikroskopskim prikazom sluznice želuca. Na infekciju upućuje prisutnost bijelih točaka koje liče *H. pylori*, neutrofila i mikroapscesa. Za istaknuti je i uporabu endoskopskih metoda u izravnoj detekciji prisustva *H. pylori* infekcije. Unatrag više godina istraživana je mogućnost uporabe standardne endoskopije bijelog svjetla (engl. *White Light Endoscopy, WLE*) u dijagnozi *H. pylori*, temeljem određenih karakteristika izgleda sluznice želuca prilikom endoskopskog pregleda (161). Nodularni izgled, eritem, erozije, zadebljani nabori, mozaični uzorak, vidljive submukozne krvne žile, neke su od karakteristika koje su povezane s *H. pylori* infekcijom u više studija (162). Ipak, subjektivnost metode i nedostatak usuglašenih kriterija predstavljaju temeljni nedostatak ovakvog pristupa. S druge strane, za istaknuti je da se poboljšanje endoskopskog izgleda sluznice može očekivati tri mjeseca nakon uspješne eradikacije (163). Razvojem tehnologije u endoskopiji, pojavljuje se metoda uskopojasnog slikovnog prikaza (engl. *Narrow Band Imaging, NBI*) koja koristi plavo svijetlo iz laserskog izvora, čime se vizualizira vaskularna arhitektura želučane sluznice. NBI metoda omogućava detekciju *H. pylori* na osnovu izgleda sluznice. Njena primjena ima značajnu vrijednost u detekciji prekanceroznih lezija, kao što je intestinalna metaplazija, s osjetljivošću i specifičnošću većom od 95% (164). U odnosu na standardnu endoskopiju bijelog svjetla i kromoendoskopiju, magnificirajuća NBI tehnika superiorna je u detekciji ranog karcinoma želuca (165).

Histološka analiza bioptata želuca metoda je detekcije *H. pylori* koju su 1984. predstavili Marshall i Warren (7). Preporučuje se biopsija i histološka analiza barem dva uzorka iz područja antruma i dva iz područja korpusa želuca. Uzimanjem uzorka samo iz antruma lako se može previdjeti dijagnoza atrofičnog ili limfocitnog gastritisa u kojima je antrum uglavnom bez patoloških promjena. Reaktivna gastropatija i intestinalna metaplazija puno su češće u antrumu nego u korpusu te postoji realna šansa da se ova stanja ne utvrde samo biopsijom kardije. Za identifikaciju *H. pylori* koriste se mnoga bojila: hematoksilin-eozin bojilo, Wright-Giemsa,

toluidinsko modrilo i Warthin-Starry bojilo. Danas se preporučuje imunohistokemijsko bojanje koje ima specifičnost i osjetljivost blizu 100%, ali je skuplje od prije navedenih metoda (166).

Utvrđivanje prisutnosti *H. pylori* u biopsijskom materijalu bio je prvi dijagnostički kriterij. Identifikacija s normalnim bojenjem hematoksilinom i eozinom olakšana je drugim bojama, kao što je Giemsa. Međutim, nejednolika distribucija bakterije na želučanim površinama zahtijeva, za adekvatnu procjenu, da se provedu različite biopsije, s najmanje dvije na antralnom mjestu i dvije na mjestu tijela i fundusa. Treba imati na umu da atrofični gastritis i crijevna metaplazija, koji otežavaju rast *H. pylori,* smanjuju gustoću bakterija i mijenjaju njihovu distribuciju, što određuje potrebu za daljnjom pažnjom u biopsijskom mapiranju. Liječenje inhibitorima protonske pumpe (IPP) također uzrokuje smanjenje osjetljivosti ove metode, što onemogućuje identifikaciju bakterije u otprilike jednoj trećini slučajeva.

Izolacija *H. pylori* iz bioptata sluznice želuca metoda je sa specifičnošću od skoro 100% i s osjetljivošću koja varira između 85% i 95% (167). Loša kvaliteta samog uzorka, spor transport, izloženost aerobnom okolišu, visoko aktivni gastritis, konzumacija alkohola i dugotrajno korištenje blokatora histaminskih receptora može negativno utjecati na točnost dijagnostičke metode. Bioptat može preživjeti u transportnom mediju do 24 sata na temperaturi od 4°C. Za samu izolaciju najčešće se koriste Pylori agar, Skirrow agar, Columbia krvni agar i Brucella agar. Proces se odvija u mikroaerobnom okolišu na 35 do 37°C između 5 i 7 dana. To je skupa i spora metoda, ali veoma bitna za ispitivanje rezistencije *H. pylori* na antibiotike. Identifikacija s normalnim bojenjem hematoksilinom i eozinom olakšana je drugim bojama, kao što je Giemsa. Međutim, nejednolika distribucija bakterije na želučanim površinama zahtijeva, za adekvatnu procjenu, da se provedu različite biopsije, s najmanje dvije na antralnom mjestu i dvije na mjestu tijela i fundusa.

Brzi ureaza test endoskopska je metoda detekcije *H. pylori*. Bakterija *H. pylori* sadrži enzim ureazu koja razgradi ureju i stvara amonijak. Amonijak povisi pH što se može detektirati pH indikatorom fenol crveno, ako je bakterija uistinu prisutna u bioptatu. Amonijak promijeni boju pH indikatora iz žute u ljubičastu. Prvi brzi ureaza testovi očitavali su se nakon 24 sata, a danas postoje ultra brzi ureaza testovi (engl. *Urea Ultrafast-Test* – UFT 300) koji se mogu očitati već nakon 5 minuta. Takvi testovi omogućuju pacijentima dobivanje rezultata prije nego što napuste zdravstvenu ustanovu. Osjetljivost UFT 300 testa je 90.3%, 94.5% i 96.2% nakon 1, 5 i 60 minuta, dok je specifičnost 100% (168). Osjetljivost i specifičnost brzih ureaza testova mnogo je niža kod pacijenata s akutnim gastrointestinalnim krvarenjem, s brojnim lažno pozitivnim i lažno negativnim

rezultatima. Negativni brzi ureaza test zato ne može pouzdano isključiti *H. pylori* infekciju za vrijeme akutnog krvarenja. *H. pylori* ima visoku aktivnost ureaze, s posljedičnom proizvodnjom NH3 koji proizvodi promjenu pH u mediju, što se može otkriti promjenom boje acido-baznog indikatora (najviše korišteno je fenol crveno). To je dovelo do razvoja nekih testova koji koriste različite sustave za detekciju promjene pH u različitim vremenima reakcije. Osjetljivost ovih metoda, u usporedbi s histološkom identifikacijom, je nešto ispod 90% i našla je široku primjenu u endoskopskim prostorijama. Zbog ograničenja metode, potrebno je naglasiti isti problem prijavljen za biopsiju, vezan uz distribuciju bakterije i moguću upotrebu IPP.

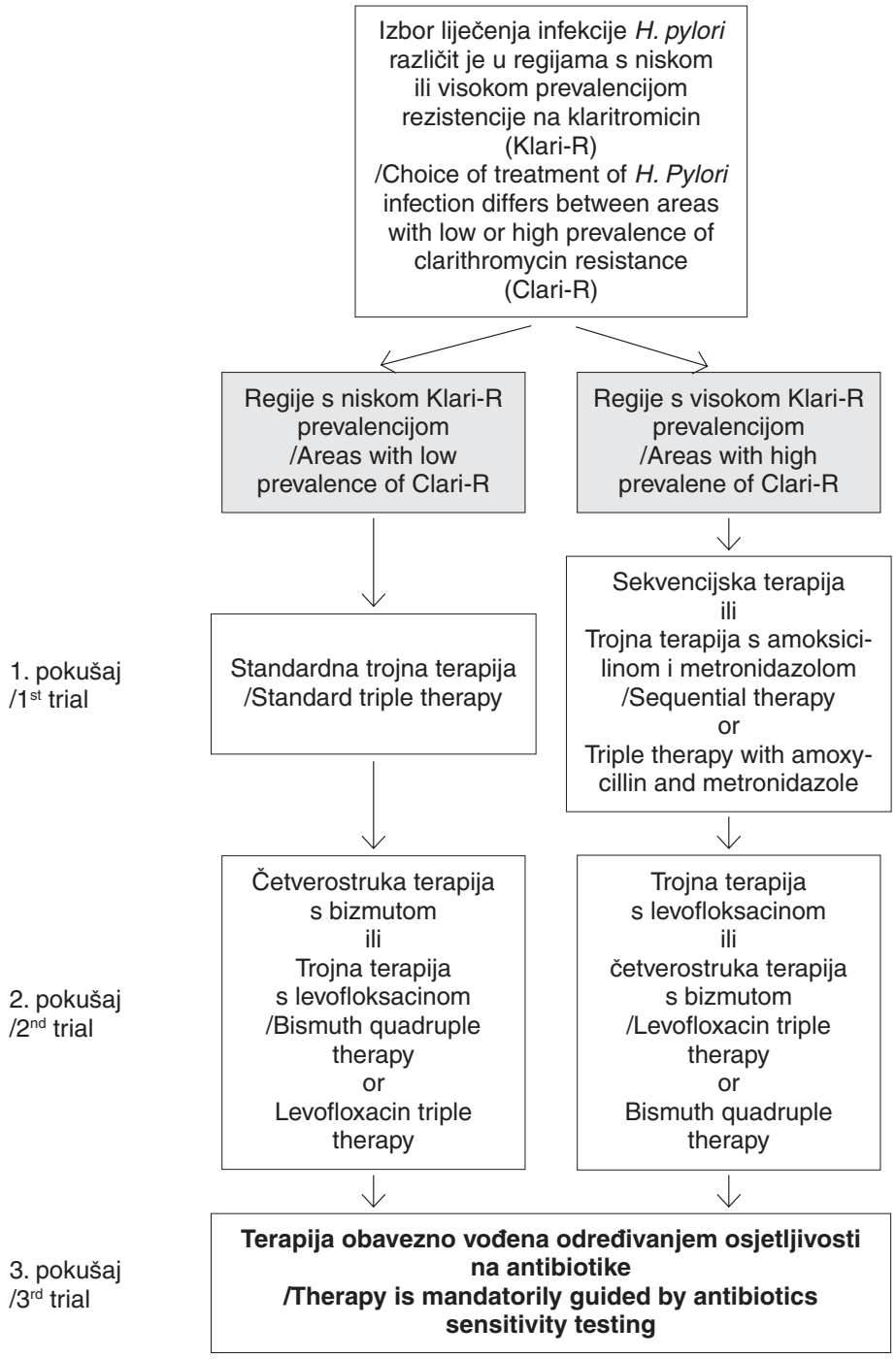
1.7. Liječenje *H. pylori* infekcije

Iako je infekcija *H. pylori* službeno proglašena zaraznom bolešću 2015., ova promjena statusa se tek treba odraziti u preporukama za liječenje ili u provođenju i analizama kliničkih studija. Kod zaraznih bolesti, naime, antibiotici se nikada ne daju pacijentima za koje je poznato da su otporni na njih. Također, dodatni antibiotici se ne dodaju u terapiju u nadi da će infekcija biti osjetljiva na barem jednog od njih. Trenutne smjernice za liječenje *H. pylori* i dalje se bave *H. pylori* gastritisom kao da je tipična gastroenterološka bolest kao što je primjerice zatvor (tj. uglavnom varijabilne ili čak i nepoznate etiologije, teško izliječiv, s relativno niskim očekivanjima i s visokim placebo odgovorom). To je do sada rezultiralo fokusom na randomizirana usporedna ispitivanja u kojima se razlike u stopi izlječenja, a ne stvarne stope izlječenja, smatraju najvažnijom mjerom ishoda. U stvarnosti većina komparativnih studija zanemaruje razlike u pojedinostima primjene lijeka koje uključuju čimbenike kao što su prevalencija rezistencije, trajanje terapije i relativna moć antisekretornog lijeka a koji uvelike utječu na ishod. Usporedna ispitivanja također obično ne uzimaju u obzir antimikrobnu rezistenciju ili njene učinke na ishod. Kao takvi, rezultati većine kliničkih ispitivanja i metaanaliza ne uspijevaju pružiti korisne informacije ili materijal iz kojeg bi se izvukle smislene smjernice za liječenje specifičnih infekcija u specifičnih pacijenata. Kao što je gore navedeno, ovaj problem je posljedica povijesti pokušaja prisiljavanja zarazne bolesti u gastroenterološki kalup. Nedavno brzo povećanje dostupnosti testiranja osjetljivosti dovelo nas je na korak do integracije terapije *H. pylori* temeljene na osjetljivosti u našu svakodnevnu praksu. Očekuje se da će se praksa brzo razviti u kombinaciju korištenja dokazanih, lokalno visoko učinkovitih, empirijskih terapija i terapije temeljene na osjetljivosti. Trenutni izbori za učinkovitu

empirijsku terapiju su četverostruka terapija bizmutom, dvostruka terapija amoksicilinom, trostruka terapija rifabutinom i trostruka ili četverostruka terapija furazolidonom. O terapiji furazolidonom ovdje se neće raspravljati s obzirom da furazolidon nije široko dostupan. Sve visoko učinkovite terapije protiv *H. pylori* temelje se na osjetljivosti (2,7,169). Po definiciji, empirijske terapije trebale bi biti ograničene na one koje pouzdano postižu visoke stope izlječenja, što u praksi podrazumijeva korištenje samo onih antibiotika za koje se zna da je prevalencija rezistencije niska. Upravo se na tim postavkama zasnivaju posljednje upute Europske skupine za istraživanje *H. pylori* i mikrobiote, sadržane u Maastricht V smjernicama iz 2017. godine (engl. *European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel - Maastricht V/Florence Consensus Report*) (21). Dijagnoza i liječenje *H. pylori* nastavlja se razvijati. Priznanje da *H. pylori* infekcije treba liječiti slično kao i druge zarazne bolesti rezultiralo je ponovnom procjenom kako pristupiti terapiji. Korištenje podataka testa izlječenja za razlikovanje onih terapija koje su djelotvorne lokalno i onih koje nisu i koje treba izbjegavati trebala bi značajno poboljšati ukupne stope izlječenja brzom eliminacijom empirijske uporabe lokalno neučinkovitih terapija. Testiranje osjetljivosti sada je široko dostupno u Sjedinjenim Državama a ponegdje i u Europskoj Uniji s posljedičnim terapijskim implikacijama (Tablica 1.). Sada postoji nekoliko prepreka jeftinom testiranju osjetljivosti na klaritromicin na temelju PCR-a u Europi te u užem smislu u našoj zemlji i kliničari bi trebali poticati svoje bolnice da ga ponude. Predviđa se da će se liječenje nastaviti brzo razvijati i koristiti kao prvu strategiju dokazano vrlo učinkovite empirijske terapije, nakon čega slijedi terapija temeljena na osjetljivosti za eventualni početni neuspjeh liječenja. Ako dokazano visoko učinkovita empirijska terapija nije dostupna, početna terapija će biti na temelju osjetljivosti. Općenito gledano otpornost na klaritromicin, metronidazol i fluorokinolone porasla je do te mjere da se ti antimikrobni lijekovi ne bi trebali empirijski koristiti. Iznimka je metronidazol kada se koristi u četverostrukoj terapiji bizmutom. Istodobna, sekvencijalna, hibridna, reverzna hibridna trostruka terapija sadrže barem jedan nepotreban antibiotik i više se ne bi trebali koristiti jer su odgovorni za desetke tisuća kilograma nepotrebne upotrebe antibiotika i vjerojatno značajno doprinose globalnoj otpornosti na antibiotike. Navedeno trebaju uvažiti naše lokalne hrvatske smjernice (Slika 1.).

Empirijske terapije	
Četverostruka bizmut terapija Bizmut subsalicilat q.i.d. 14 dana	Bizmut (npr. PeptoBismol) 2 tablete ili 2 kapsule q.i.d. 30 minuta prije jela, tetraciklin HCl 500 mg i metronidazol 500 mg 30 minuta nakon jela q.i.d. plus IPP, 30 min b.i.d. prije jela i prije spavanja (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Četverostruka bizmut terapija Bizmut subsalicilat b.i.d. 14 dana	Bizmut (npr. PeptoBismol) 2 tablete ili 2 kapsule q.i.d, 30 min prije jela, tetraciklin HCl 500 mg b.i.d. i metronidazol 500 mg, 30 minuta nakon jela q.i.d. plus IPP, b.i.d. 30 minuta prije jutarnjeg i večernjeg obroka (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Pylera. 3-u-1 formulacija četverostruke bizmut terapije s bizmut citratom: 14 dana	Dati kombinirane tablete uz obroke i prije spavanja plus IPP 30 minuta prije doručka (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Trostruka terapija rifabutinom. 14 dana	Rifabutin 150 mg b.i.d., amoksicilin 1 g t.i.d. plus 40 mg esomeprazola ili rabeprazola 30 minuta prije doručka i prije spavanja (pogledajte preporuke za IPP u nastavku).
Talicia 3-u-1 formulacija trostruke terapije rifabutinom. 14 dana	Prema uputama u pakiranju
Terapije učinkovite samo kao terapija temeljena na osjetljivosti. Ne treba koristiti empirijski osim ako nije dokazano da izliječi >90% lokalno	
Trostruka terapija klaritromicinom. 14 dana	Klaritromicin 500 mg b.i.d., amoksicilin 1 g b.i.d. 30 minuta nakon obroka plus IPP b.i.d. 30 minuta prije jela (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Trostruka terapija metronidazolom. 14 dana	Metronidazol 500 mg b.i.d., amoksicilin 1 g b.i.d., 30 minuta nakon jela plus IPP b.i.d. 30 minuta prije jela (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Trostruka terapija levofloksacinom. 14 dana	Levofloksacin 500 mg ujutro, amoksicilin 1 g b.i.d., 30 minuta nakon jela plus IPP b.i.d. 30 minuta prije jela (pogledajte preporuke za IPP u nastavku)
Preporuke za IPP; IPP bi po mogućnosti trebao biti IPP druge generacije (tj. rabeprazol ili esomeprazol) i najmanje 20 mg, po mogućnosti 40 mg, rabeprazola ili esomeprazola d.d. 30 min prije jela	
Zastarjele terapije Svi režimi koji uključuju barem jedan antibiotik koji ne nudi terapijsku korist i služi samo za povećanje globalne antimikrobne rezistencije: istodobna, hibridna, obrnuta hibridna, sekvencijalna terapija i trostruka terapija vonoprazanom, klaritromicinom i amoksicilinom.	

Tablica 1. Trenutno dostupne i učinkovite terapije Helicobacter pylori u Sjedinjenim Državama i Europskoj Uniji.



Slika 1. Izbor liječenja u regijama s niskom i visokom prevalencijom rezistencije na klaritromicin prema hrvatskim smjernicama

1.7.1. Rezistencija i mehanizam neuspjeha liječenja

Opći nedostatak testiranja osjetljivosti i prije terapije i u sklopu neuspjeha liječenja uvelike je odgovoran za neuspjeh ranog razvoja visoko učinkovitih režima. Najčešći uzroci neuspjeha liječenja uključuju prisutnost mikroorganizama rezistentnih na antimikrobne lijekove, pojavu rezistencije tijekom liječenja, neučinkovitost antisekretorne terapije, nepravilne doze lijeka ili intervale doziranja, prekratko trajanje terapije i slabo pridržavanje bolesnika terapiji (170). Neuspjeh u pokušaju identificiranja uzroka neuspjeha liječenja i pretjerano jednostavnog ocjenjivanja ishoda u usporedbi s drugom terapijom uvelike je bio odgovoran za dugo kašnjenje u identificiranju ujednačenih visoko učinkovitih terapija ili mogućnosti poboljšanja režima s lošim ishodima. Već najranija ispitivanja za pronalaženje učinkovite terapije identificirala su pojavu antimikrobne rezistencije tijekom terapije *H. pylori* kao značajan problem. Pojava rezistencije ubrzo je postala glavni problem koji je spriječio učinkovitu terapiju metronidazolom (171), a potom i klaritromicinom (172). Ovo rano razdoblje bilo je razdoblje eksperimentiranja, posebno omeprazola s antibioticima amoksicilinom, meronidazolom/tinidazolom i klaritromicinom (173). Zapaženo je da amoksicilin pojačava učinkovitost klaritromicina i metronidazola, ali opći nedostatak ispitivanja osjetljivosti prije i nakon terapije spriječio je prepoznavanje da je jedan od njegovih glavnih učinaka prevencija pojave rezistencije tijekom terapije. Problem pojave rezistencije na klaritromicin bio je evidentan u ispitivanjima monoterapije klaritromicinom (174). Studija primjene klaritromicina i amoksicilina (plus ranitidina za zacjeljivanje ulkusa) pokazala je da je pojava rezistencije ili spriječena ili uvelike smanjena dodatkom amoksicilina (175). Prednost dodatka amoksicilina potvrđena je u kliničkim ispitivanjima klaritromicina plus amoksicilina i omeprazola ili lansoprazola, od kojih su oba postala režimi koje su odobrila nadležna tijela (176). Ovo iskustvo je na kraju rezultiralo trostrukim terapijama protiv *H. pylori* koje se sastoje od antisekretornog lijeka, amoksicilina te drugog antibiotika kao što su klaritromicin, metronidazol, levofloksacin iili rifabutin.

Vrlo rano započeta su istraživanja terapije koja je sadržavala klaritromicin (177). To je uključivalo trostruku kombinaciju klaritromicina, amoksicilina i omeprazola pri čemu je testirana osjetljivost na antimikrobne lijekove samo prije liječenja te je temeljem toga predviđena uspješna primjena u praksi (178). Nasuprot tome, kao što je gore prikazano, ključevi za razumijevanje terapije uključuju ispitivanje osjetljivosti i prije i u sklopu neuspjeha liječenja. Niske doze amoksicilina uvelike su eliminirale pojavu rezistencije tijekom terapije klaritromicinom,

metronidazolom i levofloksacinom. Nejasno je da li je on također poboljšao terapiju djelujući kao dodatni antibiotik, ali ako jest, doprinos je bio mali, što je pokazalo ispitivanje ishoda pomoću nomograma *H. pylori* (179). U prisutnosti rezistencije na klaritromicin, kao dodatna korist primjene amoksicilina pokazao se prvenstveno učinak na supresiju želučane kiseline što poboljšava kako učinak amoksicilina kao i njegov učinak na inhibitor protonske pumpe. Iako se klaritromicin još uvijek široko koristi u liječenju *H. pylori,* do 2000. godine (tj. prije više od 20 godina), povećana rezistencija dovela je do toga da je trostruka terapija klaritromicinom postala općenito neučinkovita (180). Unatoč svojoj slaboj kliničkoj učinkovitosti, međutim, ostaje u praksi jedna od najkorištenijih kombinacija. Trenutačno, prevalencija rezistencije isključuje korištenje trostruke terapije klaritromicinom, fluorokinolonima ili metronidazolom, osim kao terapije temeljene na osjetljivosti. Naime, osnovno pravilo u liječenju zaraznih bolesti je empirijski propisivanje samo onih terapija kojima je dokazana i potvrđena visoka lokalna učinkovitost. Tri pristupa identificiranju takvih terapija su analiza povijesti uporabe antibiotika, ispitivanje osjetljivosti i osobno ili lokalno iskustvo. U tom smislu važni su samo rezultati dobiveni lokalno, a nacionalne i društvene smjernice za *H. pylori* treba zanemariti osim ako se njihove preporuke ne poklapaju s lokalnim iskustvom. Antimikrobna rezistencija glavni je razlog neuspjeha inače uspješnih antimikrobnih terapija. Prisutnost rezistencije na antibiotike unutar populacije odraz je količine njihove uporabe u toj populaciji (180). Rezistencija na fluorokinolone, makrolide i metronidazol sada je gotovo univerzalna, dok je rezistencija rijetka za amoksicilin, tetraciklin i rifabutin. Isti principi koji se koriste za identifikaciju rezistencije u populacijama također su primjenjivi i na pojedince u smislu pregleda povijesti uporabe antimikrobnih sredstava.

Ove su preporuke u početku bile korisne za osiguravanje uspješne empirijske primjene klaritromicina, metronidazola ili fluorokinolona. Prevalencija rezistencije na ove antibiotike, međutim, porasla je do te mjere da je sada najbolje ograničiti njihovu upotrebu na terapiju temeljenu na osjetljivosti. Uspjeh liječenja treba uvijek biti potvrđen za svakog pojedinca testom izlječenja odnosno eradikacijskog uspjeha. Terapiji bi također trebala prethoditi formalna edukacija/ savjetovanje bolesnika o terapiji, mogućim nuspojavama i važnosti završetka terapije (Tablica 2.). Pisane upute su osobito korisne.

Uzeti detaljnu anamnezu i odvojiti dovoljno vremena za naknadne posjete
Pojednostavljeno objasniti učinke infekcije na želudac, moguće ishode infekcije i kako izlječenje infekcije rezultira cijeljenjem oštećenja i prevencijom čira i recidiva ulkusa te smanjenjem ili eliminacijom rizika od raka želuca.
Navesti opis složenosti odabranog režima, nužnosti pridržavanja rasporeda liječenja i dovršetka režima, uključujući obvezu da se pokuša dovršiti režim.
Dati jasan pisani opis lijekova i plan doziranja te, ako je moguće, osigurati odgovarajuće spremnike (kutije za tablete ili blister pakete) raspoređene prema planovima doziranja u odnosu na obroke i vrijeme spavanja.
Opisati štetne učinke, kao što su loše osjećanje (mučnina, glavobolja, poremećaj okusa, rijetka stolica i sl.), koje se očekuju kao posljedica liječenja.
Navesti kontakt dostupan nakon radnog vremena i vikendom koji može odgovoriti na pitanja kako bismo osigurali pridržavanje.
Pridržavanje uzimanja lijeka treba pratiti raspravom i prebrojavanjem preostalih tableta, koje pacijent po mogućnosti treba vratiti na kraju liječenja.
Test izlječenja treba napraviti 4 ili više tjedana nakon terapije kako bi se osiguralo izlječenje i pružila povratna informacija o lokalnoj učinkovitosti primijenjene terapije.

Tablica 2. Koraci za poboljšanje učinkovitosti terapije Helicobacter pylori.

1.7.2. Test izliječenja

Klasični pristup terapiji *H. pylori* uključuje tri koraka: točna dijagnoza aktivne infekcije, terapija i potvrda izlječenja. Ključno je da svaki tijek terapije bude praćen testom izlječenja, po mogućnosti korištenjem neinvazivnog testiranja kao što je antigen iz stolice ili urea izdisajni test (UBT). Kako bi se spriječili lažno negativni rezultati, potrebno je pridržavati se preporuka o prestanku uzimanja IPP, antibiotika i bizmuta za odgovarajuće vrijeme za testiranje. Test izlječenja daje izravnu i neposrednu povratnu informaciju o ishodu i obavještava kliničare o tome koje su terapije uspješne, a koje neuspješne. U idealnom slučaju, podatci testa izlječenja također bi se dijelili s kolegama kako bi se proširila lokalna i regionalna baza znanja. Gledajući retrospektivno, ovaj jednostavan pristup nije odmah prepoznat kao kritični element koji kliničarima može pružiti neposrednu i lokalnu povratnu informaciju. Stoga, desetljeća neuspjeha lokalnog liječenja zabilježena su i objavljena kao zapažanja, a ne kao kritične prilike za pružanje bolje skrbi (181).

Kod većine drugih zaraznih bolesti poznati su lokalni obrasci osjetljivosti, testiranje osjetljivosti je lako dostupno u lokalnim laboratorijima i bolnicama, a podaci se prikupljaju i

dostupni su ažurirani lokalni/regionalni popisi antibiotika po izboru. Ispitivanje osjetljivosti na *H. pylori* u posljednje je vrijeme sve dostupnije. Epidemija Covid-19 dovela je do uspostavljanja testiranja primjenom PCR testa u praktično svim lokalnim bolnicama i laboratorijima za ispitivanje. U Europi su tako dostupni jeftini setovi za testiranje uzoraka želučanih biopsija ili stolice na rezistenciju na klaritromicin [npr. Amplidiag H. pylori+ClariR (Mobidiag; Espoo, Finska), test RIDA GENE Helicobacter pylori (R-Biopharm AG, Darmstadt, Njemačka), H. pylori ClariRes (Ingenetix, Beč, Austrija), Allplex ClariR (Austrija), Seegene, Seoul, Koreja), Lightmix H. pylori (TIB; Molbiol, Njemačka) i H. pylori TaqMan PCR test u stvarnom vremenu (Meridian Bioscience, Cincinnati, Ohio, SAD)] (182-185) Genotip HelicoDR test (Hain Lifescience, Nehren, Njemačka) korišten je primjerice za rezistenciju uzoraka želučanih biopsija i na klaritromicin i na levofloksacin, ali se pokazao manje učinkovit za testiranje uzoraka stolice na rezistenciju na levofloksacin (186). Kliničari bi trebali potaknuti lokalnu bolnicu/laboratorij da uključi testiranje osjetljivosti na bazi PCR-a. barem za klaritromicin. Slijede i nove generacije testova uzoraka stolice za istovremeno ispitivanje osjetljivosti šest antibiotika (amoksicilin, klaritromicin, metronidazol, tetraciklin, rifabutin i levofloksacin) od proizvođača American Molecular Laboratories (Vernon Hills, Illinois, SAD) (187).

1.7.3. Prepreke uspješnoj terapiji

Važne prepreke koje sprječavaju učinkovitu terapiju uključuju tzv. učinak inokuluma, perzistirajuće stanje infekcije i intragastričnu kiselost. Učinak inokuluma odnosi se na činjenicu da je broj *H. pylori* u želucu doista velik tako da je statistički mali udio organizama vjerojatno otporan na antimikrobne lijekove kao što su metronidazol, klaritromicin i fluorokinoloni (188). Kao gore navedeno, to je klinički opaženo kao pojava rezistencije tijekom monoterapije s tim antibioticima i dovelo je do dodavanja amoksicilina kako bi se smanjila ukupna populacija, a time i izgledi da će populacije rezistentnih organizama niske prevalencije preživjeti kako bi se spriječila učinkovita terapija. Bizmut ima sličan učinak. Hibridna terapija koristi uvođenje IPP plus dvostruku terapiju amoksicilina, nakon čega slijedi 7-dnevna istodobna terapija. U ovom slučaju, može se smatrati također da uvođenje ima za cilj smanjiti populaciju niske prevalencije organizama rezistentnih na klaritromicin ili metronidazol i tako rezultirati boljim ishodom uz kraću izloženost višestrukim antibioticima.

Perzistentni učinak uvelike je povezan s činjenicom da se *H. pylori* replicira samo kada je pH u njegovom lokalnom okruženju približno 5.5 (189) Pri nižim pH, organizam postaje otporan na antibiotike koji zahtijevaju replikaciju da bi terapija bila učinkovita, kao što je primjerice penicilin. Tradicionalni pristup perzistiranom učinku je produljenje trajanja terapije (sličan primjer je liječenje tuberkuloze). Osnovno pravilo je da ako liječenje nije uspjelo a organizam nije otporan na upotrijebljeni antibiotik, trajanje terapije je bilo nedovoljno. Sposobnost pouzdane kontrole intra-želučane pH vrijednosti s novim kalij-kompetitivnim blokatorima kiseline (P-CAB) čini osnovu za potencijalno vrlo uspješnu dvostruku terapiju amoksicilinom. Kontrola pH također je važna u sprječavanju uništavanja nekih antibiotika tijekom prolaska kroz želudac.

1.7.4. Terapije prve linije

Prevalencija antibiotske rezistencije uvelike se razlikuje između različitih geografskih regija što u konačnici određuje i izbor antibiotika u eradikacijskoj shemi (3,7). Naime, suvremeni pristup liječenju *H. pylori* infekcije temelji se na podatcima o lokalnoj antibiotskoj rezistenciji na osnovu čega se može predvidjeti uspjeh eradikacije. Općenito, preporuča se koristiti terapije koje traju ne manje od 10 dana. Klasične trostruke terapije (IPP + dva antibiotika) treba nastaviti najmanje 14 dana, ali sada one rijetko dopuštaju postizanje stope eradikacije veće od 80%; trostruke terapije koje sadrže klaritromicin treba preporučiti samo kada je rezistencija na ovaj antibiotik niska (<15%) (190). U regijama visoke rezistencije na klaritromicin izbor terapije treba se naime temeljiti na podatcima o rezistenciji na metronidazol te podatku o dvojnoj rezistenciji (na klaritromicin i metronidazol). U pojedinim regijama, kao što je Japan, rezistencija na metronidazol je izrazito niska te se tolerira zamjena klaritromicina s metronidazolom u trojnoj terapiji, sa zadovoljavajućim stopama eradikacije (191). U slučaju dvojne rezistencije na klaritromicin i metronidazol koja je niža od 15%, preporuča se terapija temeljena na bizmutu ili četverostruka ne-bizmut terapija, ali samo ako je rezistencija na metronidazol manja od 40% (192). U većini zemalja srednje i južne Europe bilježe se visoka rezistencija na klaritromicin > 15%, uz nisku do umjerenu rezistenciju na metronidazol (< 40%) (193). Raniji podatci za Splitsko-dalmatinsku županiju ukazuju da je rezistencija na klaritromicin 21,2%, dok je rezistencija na metronidazol 10,2% (7,16, 20). Stoga se u navedenim regijama sugerira korištenje i četverostruke terapije koja nije temeljena na bizmutu kao alternativa četverostrukoj terapiji temeljenoj na bizmutu. U regijama visoke dvojne rezistencije na

klaritromicin i metronidazol terapija temeljena na bizmutu je terapija prvog izbora (194). U slučaju da bizmut nije dostupan, tolerira se upotreba levofloksacina, rifabutina te amoksicilina i inhibitora protonske pumpe u visokoj dozi. Ukoliko u regiji visoke dvojne rezistencije nije dostupan tetraciklin, predlaže se alternativa u vidu kombinacije furazolidona i metronidazola ili amoksicilina i metronidazola. Recentne Maastricht smjernice predlažu četverostruku bizmut terapiju u trajanju od 10 do 14 dana (21). Naime, dosadašnje studije pokazuju benefit dužeg trajanja terapije u pogledu uspješnije eradikacije (194). Stoga se preferira trajanje terapije u periodu od dva tjedna, pogotovo u regijama visoke rezistencije na metronidazol. Za razliku od rezistencije na klaritromicin, rezistencija na metronidazol može se nadvladati povećanjem doze i frekvencije te duljim trajanjem terapije metronidazolom (195).

Prema Maastricht V smjernicama, dakle konkomitantna terapija predložena je kao prvi izbor među četverostrukim ne-bizmut protokolima u područjima niske dvojne rezistencije. Karakterizira je jednostavna shema primjene u odnosu na sekvencijsku te tolerancija slična trojnoj terapiji. Na temelju rezultata nekoliko istraživanja, trenutna preporuka je terapija u trajanju od 14 dana (5,196). Kraće trajanje konkomitantne terapije (10 dana) može biti alternativa jedino ukoliko je dokazana njena učinkovitost u pojedinoj regiji.

U regijama s niskom rezistencijom na klaritromicin (< 15%) može se koristiti standardna trojna terapija temeljena na klaritromicinu kada se preporuča terapija u trajanju od 14 dana (197). Upotreba inhibitora protonske pumpe u visokoj dozi, dva puta dnevno, povećava učinkovitost eradikacijske terapije (198). Naime, odgovor na terapiju IPP-om determiniran je citokromom 2C19 i MDR (engl. *Multiple Drug Resistance*) polimorfizmom koji određuju sposobnost metaboliziranja lijeka kod svakog pojedinca (199). Kod osoba kod kojih je navedeni metabolički mehanizam izraženiji, potrebno je primijeniti višu dozu lijeka. Europska populacija pokazuje veću prevalenciju visokih metabolizatora u odnosu na azijsku populaciju (200). Pretpostavka je da je djelovanje amoksicilina i metronidazola na *H. pylori* izraženije u replikativnoj fazi u koju bakterija ulazi prilikom podizanja pH vrijednosti. CYP2C19 polimorfizam ima minimalni utjecaj na esomeprazol i rabeprazol te terapijski protokoli koji sadrže navedena dva lijeka imaju i veću eradikacijsku stopu u odnosu na terapije koje sadrže inhibitore protonske pumpe starije generacije. Četverostruka terapija bizmutom (povezana s tetraciklinom i metronidazolom) nedavno je prezentirana u jednoj kapsuli (Pylera®). U nedavnoj meta-analizi eradikacija s Pylerom bila je 90% (95% CI: 87% - 92%) (intention to treat analiza), također potvrđeno u nedavnoj talijanskoj prospektivnoj studiji (91%; CI

95%: 87,4 - 94,6) (201). U bolesnika zaraženih sojevima rezistentnim i na klaritromicin i na metronidazol, uspjeh je ostao nepromijenjen (% eradikacije: 91%; 95% CI: 85% - 97%). Četverostruka terapija bizmutom, međutim, ima visoku učestalost nuspojava (41%; 95% CI: 33% - 49), uglavnom manjih; 3% bolesnika prisiljeno je prekinuti terapiju (202). U kliničkoj praksi, suradljivost može biti ograničavajući čimbenik sa uzimanjem 14 tableta u 4 dnevne doze tijekom 10 dana.

Istodobnu terapiju (IPP + tri antibiotika) inače preporučuju američke i kanadske smjernice, dok je europske preporučuju samo ako bizmut nije dostupan ili postoji visoka rezistencija na klaritromicin (203). Hibridna i sekvencijalna terapija također zahtijevaju kombinaciju tri antibiotika, ali je broj kapsula manji jer se svi lijekovi ne uzimaju 14 dana; nejasno je jesu li njihovi rezultati usporedivi ili inferiorni u odnosu na istodobnu terapiju i kontinuiranu trostruku terapiju tijekom 14 dana.

Nova 14-dnevna trostruka terapija s kapsulom sve u jednom koja sadrži omeprazol, amoksicilin i rifabutin nedavno je proučavana u Sjedinjenim Državama, čime je postignuta stopa eradikacije ITT od 83,8% (95% CI: 78,4 - 88,0). Treba imati na umu da je rifabutin bitan lijek za liječenje mikobakterioze (osobito u bolesnika s HIV-om) pa treba biti oprezan (204).

1.7.5. Terapije druge linije

Nakon neuspjeha početne terapije, treba izbjegavati propisivanje režima s istim antibioticima, posebice klaritromicinom i levofloksacinom. Što se tiče metronidazola, njegova ponovna uporaba u kombinaciji s bizmutom moguća je zahvaljujući sinergističkom učinku između dva lijeka (205). Amoksicilin ili tetraciklini također se mogu ponovno koristiti jer je razvoj rezistencije na ove antibiotike općenito nizak.

I hrvatske i međunarodne smjernice slažu se oko činjenice da izbor terapije druge linije treba napraviti između četverostruke terapije bizmutom (koja postiže stope eradikacije od 89%; 95% CI: 86-93) i trostruke terapije s levofloksacinom (koji ima stope eradikacije od 74,5%; 95% CI: 70,9 - 77,8), oba u trajanju između 10 i 14 dana (206,207). Nakon neuspjeha standardne trojne terapije preporuka je koristiti četverostruku terapiju temeljenu na bizmutu ili terapiju s levofloksacinom u drugoj eradikacijskoj liniji. Terapija zasnovana na levofloksacinu može se primjenjivati kao trojna

(IPP, amoksicilin, levofloksacin) ili četverostruka varijanta (IPP, bizmut, amoksicilin, levofloksacin). Na osnovu rezultata više istraživanja eradikacijska stopa terapije s bizmutom u drugoj liniji iznosi 76% (208-210). Trojna terapija s levofloksacinom i terapija temeljena na bizmutu pokazuje podjednaku učinkovitost u drugoj liniji, a nakon neuspjeha standardne trojne terapije s klaritromicinom. Tradicionalna četverostruka terapija bizmutom sastoji se od IPP, bizmuta, metronidazola i tetraciklina. To je složena, ali vjerojatno najpouzdanije učinkovita terapija koja se obično koristi za eradikaciju *H. pylori*. Režim je složen i u smislu lijekova i interpretacije rezultata terapije. Uspjeh liječenja u ovoj eri sve veće antimikrobne rezistencije zahtijeva pažnju na detalje terapije, posebno u odnosu na dozu i trajanje terapije. Mnogo je mitova, zabluda i pogrešnih zaključaka u vezi s četverostrukom terapijom bizmutom. Jedno od pitanja odnosi se na učinak rezistencije na uspjeh liječenja, posebno u odnosu na metronidazol. Na primjer, često se sugerira da rezistencija na metronidazol, kako je utvrđena u laboratoriju, ima ograničenu ili nikakvu sposobnost predviđanja rezultata terapije tako da nema razloga za testiranje osjetljivosti. Ova zabluda vjerojatno je povezana s činjenicom da učinci rezistencije na metronidazol nisu zasnovani na principu "sve ili ništa" te se stoga razlikuju od onoga što se obično očekuje od klaritromicina ili levofloksacina. Infekcije osjetljive na metronidazol dosljedne su u odgovoru na optimizirane terapije (211). Iako rezistencija na metronidazol ne uklanja u potpunosti djelovanje lijeka, ona nesumnjivo ipak smanjuje učinkovitost terapija koje sadrže metronidazol, uključujući i trostruke i četverostruke formulacije. Do danas je jedina iznimka da se rezistencija na metronidazol može prevladati korištenjem četverostruke terapije bizmutom, ali s upozorenjem da uspjeh ovisi i o dozi i o trajanju.

U slučaju neuspjeha četverostruke terapije temeljene na bizmutu u prvoj liniji, u drugoj liniji preporuča se trojna ili četverostruka terapija koja uključuje levofloksacin (212). Randomizirana studija ne ukazuje na statistički značajnu razliku u eradikacijskoj stopi između četverostruke terapije s levofloksacinom (87%) i trojne terapije s levofloksacinom (83%) (213).

Uspjeh terapije koja uključuje levofloksacin svakako se temelji na lokalnoj rezistenciji na fluorokinolone. U posljednje vrijeme zabilježen je porast rezistencije na fluorokinolone, što za posljedicu ima smanjenje učinkovitosti eradikacijske terapije temeljene na levofloksacinu (214). Procjenjuje se da je eradikacijska stopa manja od 80% pri korištenju terapije s levofloksacinom u regiji u kojoj je rezistencija na levofloksacin 5-10% (215). Raniji podatci za Splitsko-dalmatinsku županiju ukazuju da rezistencija na levofloksacin iznosi 4,6% (18). Uzimajući u obzir činjenicu da bizmut ima sinergijski učinak u savladavanju rezistencije na klaritromicin i levofloksacin,

obećavajući uspjeh nudi bizmut četverostruka terapija koja sadrži levofloksacin u drugoj liniji terapiji kod neuspjeha četverostruke ne-bizmut terapije te trojne terapije. Kod *H. pylori* sojeva koji su rezistentni na levofloksacin, stopa eradikacije značajno je veća kod četverostruke terapije temeljene na levofloksacinu u odnosu na trojnu- levofloksacin terapiju: 37% u odnosu na 71% (216).

Ekstremno visoka populacija *H. pylori* u želucu obično rezultira prisutnošću malih subpopulacija sojeva otpornih na antibiotike kao što je klaritromicin ili levofloksacin što se naziva efekt inokuluma (217). S metronidazolom, izgledi za rezistentnu subpopulaciju su visoki jer analiza višestrukih želučanih uzoraka od jednog pacijenta često će pokazati prisutnost i osjetljivih i rezistentnih sojeva što se naziva heterorezistencija. Kao problem u analizi tvrdnji kliničkih studija u vezi s rezistencijom navodimo česte kompliacije s obzirom na metodu koja se koristi za otkrivanje rezistencije na metronidazol. Na primjer, E-test ima tendenciju precijeniti prevalenciju rezistencije i stoga može rezultirati pogrešnim zaključkom u pogledu učinkovitosti kod rezistentnih infekcija (218). Ono što treba naglasiti jest da se učinci rezistencije na metronidazol mogu djelomično ili gotovo potpuno prevladati prilagođavanjem terapije u odnosu na dozu metronidazola i trajanje terapije. Povećanje doze metronidazola i/ili trajanja terapije je korisno i za trostruku i četverostruku terapiju metronidazolom. Važno je da se ova korist javlja i kod rezistentnih i osjetljivih infekcija.

Rezistencija na metronidazol primarna je prepreka uspješnoj terapiji četverostrukom terapijom s bizmutom. Rezistencija na bizmut je rijetka, a rezistencija na tetraciklin također rijetka, ali kada je prisutna, otpornost negativno utječe na ishod. S obzirom na to, a za razliku od metronidazola, sugerirano je da doza i učestalost primjene i bizmuta i tetraciklina možda nisu ključevi za uspješnu terapiju (219). Najčešće se tetraciklin koristi četiri puta dnevno (q.i.d.), a bizmut dva puta dnevno (b.i.d.). Rezultati s b.i.d. i q.i.d. primjenom tetraciklina i bizmuta približno su jednaki (220). Nasuprot tome, eksperimenti s primarno osjetljivim infekcijama izvijestili su o poboljšanju ishoda kada je učestalost primjene lijeka povećana što je omogućilo smanjenje pojedinačnih i ukupnih doza (220). Četverostruka terapija bizmutom stoga vrlo je učinkovita u bolesnika s infekcijama osjetljivim na metronidazol. Zabilježene su visoke stope uspjeha čak i uz vrlo kratkotrajnu terapiju (kraće od 7 dana) (221). Nasuprot tome, u prisutnosti rezistencije na metronidazol, visoke stope izlječenja zahtijevaju pune doze, duže trajanje i IPP za supresiju kiseline. Donedavno su se rezultati većine studija temeljili na podacima iz studija koje su koristile četverostruku terapiju bizmutom tijekom 14 dana. Tradicionalno, terapija se sastojala od bizmuta, tetraciklina 500 mg, metronidazola 400 ili 500 mg obično q.i.d. i IPP koji se daje b.i.d. za 14 dana.

U većini zemalja ovaj režim je rezultirao pouzdano visokim stopama izlječenja (221). Jedan od glavnih problema s četverostrukom terapijom bizmutom bila je relativno visoka učestalost nuspojava. Pokazalo se da je s bizmutom i tetraciklinom moguće smanjiti doziranje i interval doziranja (npr. na b.i.d.) i tako smanjiti nuspojave. Čini se da su doze 1500 do 2000 mg dnevno i trajanje do 14 dana kritične odrednice kada se radi o infekcijama rezistentnim na metronidazol (222).

Za osjetljive infekcije, svi lijekovi se mogu davati b.i.d. Sugerirano je da smanjenje pojedinačnih doza metronidazola uz povećanje učestalosti primjene također može smanjiti nuspojave (223). Dostupne doze metronidazola razlikuju se u različitim regijama. Na primjer, u Sjedinjenim Državama, metronidazol je dostupan samo kao verzija od 250, 500 i 750 mg s produženim oslobađanjem. U Kini su dostupne tablete od 200 mg. Bilo bi zanimljivo testirati 200 ili 250 mg nakon jela i 750 ili 800 mg prije spavanja. Postoje studije sa 750 mg b.i.d. s dobrim rezultatima ali s porastom štetnih događaja (224).

1.7.6. Terapije treće linije

Neuspjeh druge linije eradikacijske terapije nalaže potrebu određivanja osjetljivosti *H. pylori* na antibiotike, standardnom kulturom ili molekularnom metodom (225). Daljnja terapija određuje se sukladno nalazu antibiograma. Osim kulture, može se koristiti molekularna metoda određivanje genotipa rezistencije. Rezistencija na klaritromicin, levofloksacin ili rifabutin ima veliki negativan utjecaj na rezultate trostrukih terapija. Rezistencija na metronidazol ima manje izražen negativan učinak. Trostruke terapije vođene osjetljivošću pokazale su se učinkovitijima od empirijskih trostrukih terapija u liječenju prve linije (226). U sustavnom pregledu, prednosti prilagođenog liječenja u liječenju druge linije ostaju neizvjesne, a nema usporednih podataka za liječenje treće linije . U većini ovih studija sojevi su testirani samo na osjetljivost na klaritromicin.

Nema podataka koji bi uspoređivali empirijski sa sekvencijalnom terapijom vođenom osjetljivošću. Međutim, zabilježena je optimalna učinkovitost sekvencijalne terapije vođene rezistentnošću genotipa u trećoj liniji liječenja refraktorne infekcije *H. pylori* (227).

Četverostruko liječenje koje nije sadržavalo bizmut imalo je značajan utjecaj na dvostruku rezistenciju (228). Bolji rezultati s trostrukom terapijom vođenom osjetljivošću nego s empirijskom

popratnom terapijom dobiveni su u području visoke rezistencije na klaritromicin (229). Četverostruka terapija koja sadrži bizmut je tretman koji najmanje ovisi o rezistenciji na antibiotike. Rezistencija na tetraciklin vrlo je rijetka i ne očekuje se da će se razviti unatoč neuspjehu liječenja. Otpornost na metronidazol ne smanjuje stope eradikacije (230).

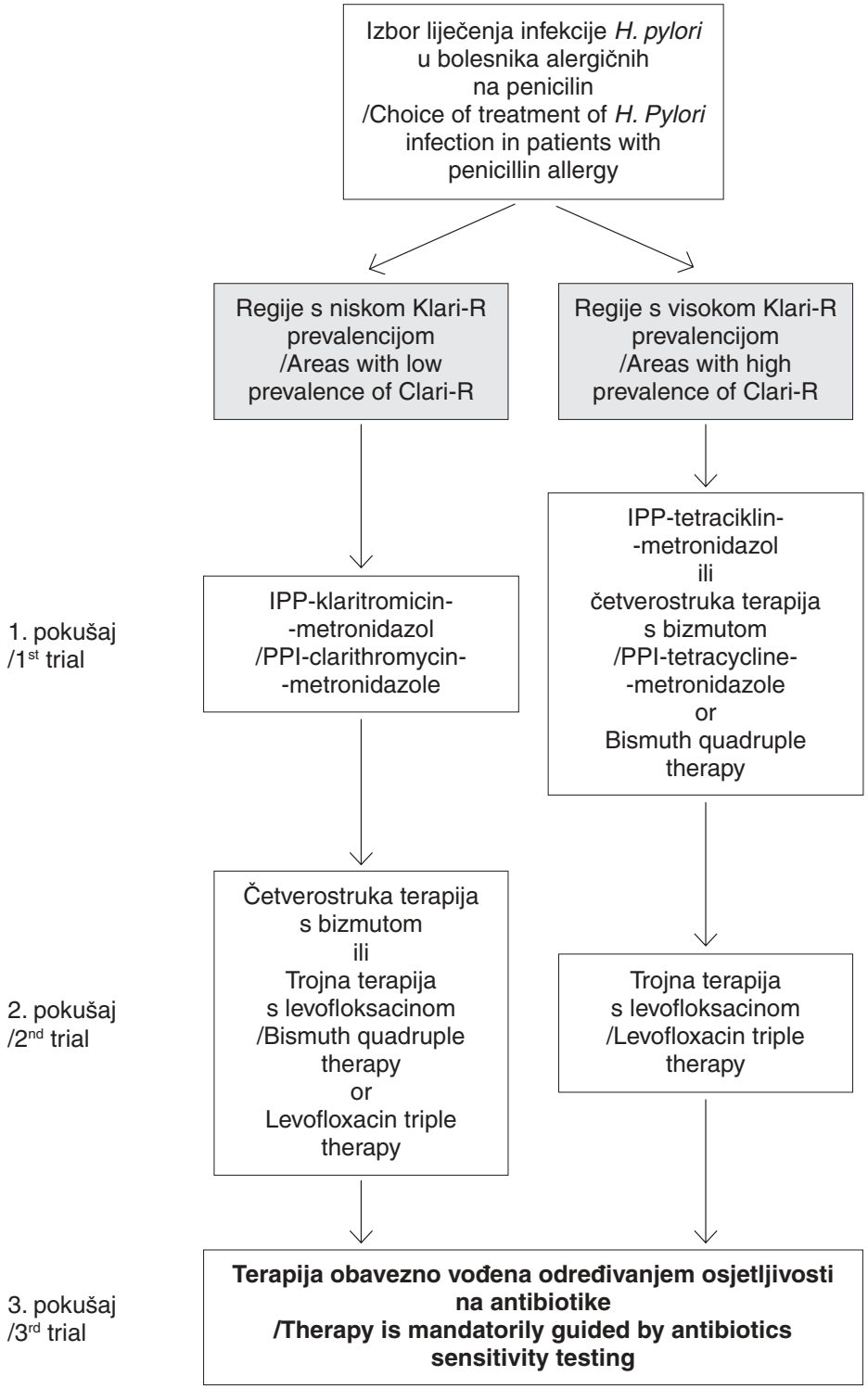
Nakon neuspjeha liječenja prve linije (na bazi klaritromicina) i liječenja druge linije (s četverostrukim režimom koji sadrži bizmut), preporuča se koristiti režim koji sadrži fluorokinolone. U regijama s poznatom visokom rezistencijom na fluorokinolone treba razmotriti kombinaciju bizmuta s različitim antibioticima ili pomoćnu terapiju koja sadrži rifabutin. Studija je testirala ovaj pristup u kliničkoj praksi i koristila je kao empirijsku terapiju treće linije režim koji se temelji na levofloksacinu. Time su postignute visoke kumulativne stope eradikacije *H. pylori* (231). Nekoliko studija je potvrdilo je učinkovitost kombinacije treće linije IPP, amoksicilina i levofloksacina za iskorjenjivanje infekcije *H. pylori* nakon dva neuspješna eradikacija (232,233). Međutim, s obzirom na porast rezistencije na levofloksacin, prevalencija rezistencije mora uzeti u obzir. U poznatoj visokoj lokalnoj rezistenciji na fluorkinolone, terapija spašavanja koja sadrži rifabutin vjerojatno predstavlja bolju terapijsku opciju. Nakon neuspjeha liječenja prve linije (trostruka ili četverostruka bez bizmuta) i liječenja druge linije (terapija koja sadrži fluorokinolone), preporuča se primjena četverostruke terapije na bazi bizmuta. Četverostruki režim s bizmutom, metronidazolom i tetraciklinom plus omeprazolom daje visoku stopu eradikacije u bolesnika koji su prethodno bili neuspješni režimi eradikacije *H. pylori* (234). Ovaj režim na bazi bizmuta nudi učinkovitu opciju kao terapiju spašavanja. Nadalje, BQT nije pod utjecajem rezistencije na klaritromicin i fluorokinolone. Nakon neuspjeha prve linije liječenja četverostrukom bizmutom i liječenjem druge linije (terapija koja sadrži fluorokinolone), preporuča se primjena trostruke ili četverostruke terapije na bazi klaritromicina. Kombinacija bizmuta s različitim antibioticima može biti druga opcija. U ovom scenariju nije ranije korišten klaritromicin. Stoga su trostruka terapija temeljena na klaritromicinu (u područjima niske rezistencije na klaritromicin) ili ne-BQT (u područjima visoke rezistencije na klaritromicin) učinkovite opcije. Druga terapijska opcija je ponovna uporaba bizmuta i kombinacije dvaju antibiotika koji prethodno nisu korišteni.

1.7.7. Populacije s posebnim karakteristikama

U bolesnika alergičnih na peniciline, terapije prve linije koje se mogu primijeniti su četverostruke s bizmutom ili trostruke s metronidazolom i klaritromicinom (uzimajući u obzir lokalnu prevalenciju rezistencije na klaritromicin) kao što je vidljivo na slici 2. (235). U regiji s niskom rezistencijom na klaritromicin, preporuča se trojna terapija s metronidazolom umjesto klaritromicina (236). U regiji s visokom rezistencijom na klaritromicin, preporuča se četverostruka terapija zasnovana na bizmutu (237). U drugoj liniji preporuka je koristiti terapiju s levofloksacinom (238).

Terapijski režimi koji će se koristiti nakon neuspjeha prve linije trebaju se odabrati na temelju prethodno korištenih tretmana.

U bolesnika koji imaju produljenje QT intervala ili koji se liječe inhibitorima CYP450 (npr. neki antidepresivi i antipsihotici, tiklopidin, neki antifungici...), treba izbjegavati klaritromicin i levofloksacin (239). Iz tog razloga, poželjni su režimi četverostruke terapije bizmutom i, u slučaju neuspjeha, trostruki amoksicilinom i metronidazolom ili rifabutinom, ili, konačno, dvostruki s visokim dozama IPP.



Slika 2. Izbor liječenja u bolesnika alergičnih na penicilin prema hrvatskim smjernicama

2. CILJ I HIPOTEZE

Glavni cilj istraživanja jest:

1. Utvrditi i usporediti učinkovitost četverostruke konkomitantne i personalizirane terapije u liječenju *H. pylori* infekcije.

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi i usporediti suradljivost bolesnika tijekom uzimanja konkomitantne i personalizirane terapije u liječenju *H. pylori* infekcije.
2. Utvrditi i usporediti moguće nuspojave tijekom uzimanja konkomitantne i personalizirane terapije u liječenju *H. pylori* infekcije.

Hipoteze istraživanja su:

1. Učinkovitost konkomitantne terapije u liječenju *H. pylori* infekcije je ispod 90%.

2. Učinkovitost personalizirane terapije u liječenju *H. pylori* infekcije je iznad 90%.

3. Bolesnici liječeni personaliziranom terapijom imaju veću suradljivost tijekom liječenja nego bolesnici liječeni konkomitantnom terapijom.

4. Bolesnici liječeni personaliziranom terapijom imaju manje nuspojava tijekom liječenja nego bolesnici liječeni konkomitantnom terapijom.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Ispitanici

Prospektivno, otvoreno, randomizirano kontrolirano ispitivanje provedeno je u KBC-u Split od siječnja 2019. do siječnja 2020. U istraživanje su uključeni svi bolesnici s dispeptičkim simptomima koji su upućeni na gornju endoskopiju. Bolesnici su bili prihvatljivi ako su bili stariji od 18 godina i imali dokumentiranu infekciju *H.pylori* prema smjernicama Maastrichta V.

Bolesnici s bilo kojim od sljedećih kriterija isključeni su iz studije: dob ispod 18 godina; prethodno neuspješna primjena empirijske terapije eradikacije *H. pylori;* maligna bolest želuca ili bilo kojeg drugog mjesta; uzimanje inhibitora protonske pumpe (IPP), H2 antagonista, bizmuta ili antibiotika (amoksicilin, metronidazol, klaritromicin) tijekom posljednjeg mjeseca; udruženi komorbiditet (bubrežna insuficijencija, mentalna bolest); alergije na lijekove: inhibitori protonske pumpe ili antibiotici (amoksicilin, metronidazol, klaritromicin); trudnoća i dojenje; odbijanje sudjelovanja u anketi.

Studija je uključivala i hospitalizirane i ambulantne pacijente kojima je infekcija *H. pylori* potvrđena u jednom od ovih testova: pozitivan test na antigen stolice (na temelju monoklonskog antitijela, ELISA), pozitivan brzi ureazni test tijekom gornje endoskopije, pozitivan histološki biopsijski test ili pozitivan urea izdisajni test. Pacijenti s pozitivnim nalazom na *H.pylori* bili su angažirani u studiji između siječnja 2019. i siječnja 2020. Svi su pacijenti morali imati potpisani informirani pristanak. Medicinsko osoblje ih je intervjuiralo za povijest bolesti i demografske podatke, a zatim su nasumično raspoređeni u dvije skupine putem računalno generirane jednostavne sheme randomizacije. Svakom od sudionika dane su pisane upute o vremenu terapije i doziranju. Protokol je odobren od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Sveučilišta u Splitu (od srpnja 2018., broj odobrenja 500-03/18-01/59) i registriran kao kliničko ispitivanje (Clinical Trials, gov: NCT04621487). Istraživanje je provedeno prema načelima Helsinške deklaracije i standardima dobre kliničke prakse.

3.2. Postupci

H. Pylori sojevi za ispitivanje osjetljivosti na antibiotike izolirani su iz uzoraka želučane sluznice (jedan iz antruma želuca i jedan iz želučanog korpusa) dobivenih tijekom gornje endoskopije. Uzgajane su u Zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split na Pylori agaru (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Francuska) nakon inkubacije od 3-5 dana, na 37 0C, u mikroaerofilnoj atmosferi. Osjetljivost izolata H. pylori na amoksicilin, klaritromicin, tetraciklin, levofloksacin i

metronidazol određena je E-testom (AB Biodisk, Solna, Švedska). E-testovi su provedeni na Columbia agar pločama sa 7% konjske krvi bez dodataka. Ploče su inokulirane bakterijskom suspenzijom (mutnoća od 3-4 McFarlanda) i inkubirane na 37°C 72 sata u mikroaerofilnoj atmosferi. Granične vrijednosti antibiotika bile su > 0,125 mg/L za amoksicilin, > 0,5 mg/L za klaritromicin, > 1 mg/L za tetraciklin, > 1 mg/L za levofloksacin i > 8 mg/L za metronidazol.

Mjesec dana nakon završetka terapije svim pacijentima urađen je ELISA test stolice na antigen *H. pylori* na Odjelu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split. S rezultatima tog testa pacijenti su ponovno procijenjeni na terapijsku usklađenost i učestalost nuspojava. Neuspjeh eradikacije definiran je kao pozitivan rezultat ovog testa. Tijekom praćenja procijenjeni su usklađenost i štetni događaji. Usklađenost je definirana količinom uzetih lijekova (usklađenost se smatrala dobrom ako je uzeto ≥ 80% terapije), na temelju preostalog broja pilula i pacijentovog upitnika koji je sam prijavio koji je uključivao informacije o usklađenosti i nuspojavama.

Nuspojave su uključivale: mučninu, bol u trbuhu, proljev, zatvor, vrtoglavicu, okus metala (u ustima), glavobolju, gubitak apetita, povraćanje, osip na koži, svrbež, crni jezik, naslage na jeziku. Nuspojave su podijeljene u skupine prema stupnju tolerancije: nema nuspojava; blagi (bez ograničenja u svakodnevnim aktivnostima); umjerena (djelomično ograničene dnevne aktivnosti) i teška (potpuno ograničene dnevne aktivnosti). Bolesnicima je naloženo da se odmah jave u slučaju bilo kakvih ozbiljnih nuspojava. Primarni ishod studije bio je usporediti stope eradikacije *H. pylori* u bolesnika koji su primali istodobnu i prilagođenu terapiju. Sekundarni ishodi bili su procjena usklađenosti i štetnih događaja u obje skupine.

Kvalificirani sudionici bili su nasumično raspoređeni, korištenjem računalno generiranog slijeda u dvije skupine. Prva skupina primala je konkomitantnu terapiju: esomeprazol 40 mg, amoksicilin 1 g, klaritromicin 500 mg i metronidazol 500 mg, koji su se svi davali oralno dva puta dnevno tijekom ukupno 14 dana. Druga skupina dobila je personaliziranu terapiju koja se sastojala od 14-dnevne antibiotske terapije prema testu osjetljivosti na antibiotike sojeva *H. pylori* zajedno s esomeprazolom 40 mg dva puta dnevno. Terapija antibioticima uključivala je dva antimikrobna sredstva na koja je test osjetljivosti bio pozitivan. Pisane upute o dozi i vremenu liječenja dane su svakom subjektu pojedinačno.

Mjesec dana nakon završetka terapije, svi ispitanici su testirani na antigen *H. pylori* u stolici korištenjem testa monoklonskih antitijela (ELISA) za procjenu uspješnosti eradikacije.

3.3. Statistička analiza podataka

Ukupan broj sudionika izračunat je na temelju parametra veličine učinka (w = 0,3), statističke značajnosti (P = 0,01) i snage 0,90. Na temelju ulaznih parametara bila je potrebna veličina uzorka od 40 ispitanika po skupini. Proračun veličine uzorka napravljen je pomoću statističkog paketa analize snage u R sučelju (ver. 3.4.3, 2017.).

Statistički softver SPSS ver. 25 (IBM Corp, Armonk, NY, SAD) i MedCalc statistički paket (verzija 19.1.2, MedCalc Software, Ostend, Belgija) korišteni su za statističku analizu podataka. Za opis podataka korištena je srednja vrijednost i standardna devijacija (SD) ili cijeli brojevi s postocima. Nadalje, za varijable stope eradikacije izračunati su 95% intervali pouzdanosti (CI). Hi-kvadrat test s Yatesovom korekcijom ili Fisherov egzaktni test korišteni su za kategoričke usporedbe podataka, dok je t-test korišten za usporedbu dobi između skupina. Binomna logistička regresijska analiza korištena je za procjenu prilagođenih omjera vjerojatnosti (aOR) štetnih učinaka, dok su varijable dobi i spola korištene kao kovarijate. Kao referentna skupina postavljena je skupina za popratnu terapiju. Analiza je provedena prema namjeri liječenja (ITT) i po protokolu (PP). ITT populacija uključivala je sve randomizirane pacijente koji su primili barem jednu dozu korištenih lijekova. PP analizom isključeni su bolesnici s nepoznatim statusom H. pylori nakon terapije (izgubljeni zbog praćenja) i bolesnici s lošom usklađenošću s terapijom (<80%). Sve pretpostavke za korištenje statističkih testova su ispunjene. Statistička značajnost postavljena je na P < 0,050.

4. REZULTATI

4.1. Karakteristike studijske grupe

Među 87 pregledanih pacijenata njih 7 je isključeno zbog neuspjeha probira. Ukupno 80 pacijenata nasumično je raspoređeno u skupinu koja je liječena konkomitantnom (n = 40) ili personaliziranom, ciljanom terapijom (n = 40). Tablica 3. prikazuje osnovne karakteristike uključenih bolesnika. Nije bilo statistički značajnih razlika između dvije skupine u pogledu dobi, spola, povijesti pušenja, konzumiranja alkohola ili endoskopskog nalaza. Ukupno pet pacijenata u konkomitantnoj skupini i jedan pacijent u ciljanoj skupini izgubljeno je zbog praćenja. U svakoj skupini tri pacijenta su konzumirala manje od 80% propisanih lijekova. Dijagram tijeka regrutiranja sudionika studije prikazan je na slici 3.

Tablica 3. Temeljne karakteristike ispitanika

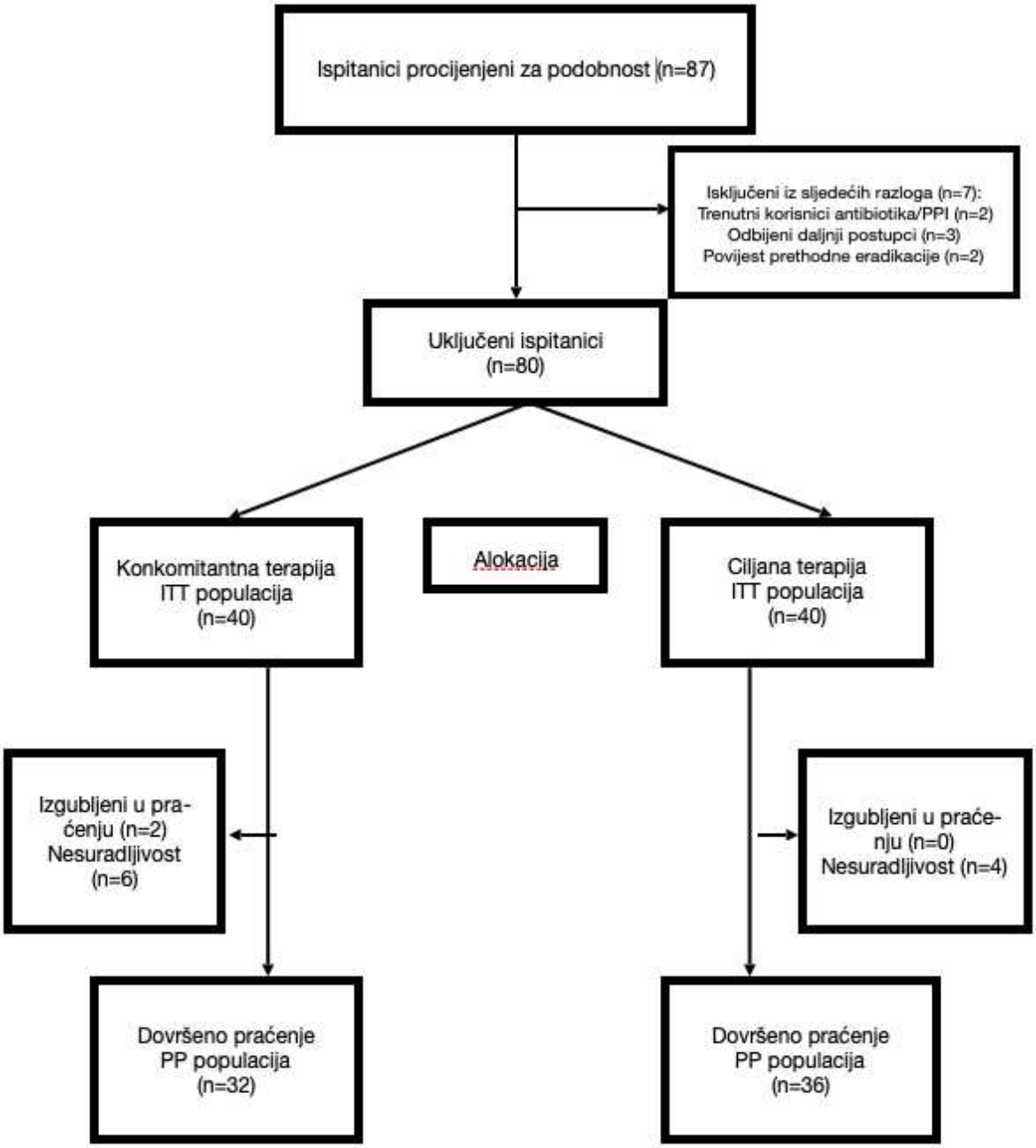
Parametar	**Konkomitantna terapija (N=40)**	**Ciljana terapija (N=40)**	***P****
Muški spol(N, %)	21 (52.5)	17 (42.5)	0.373*
Dob (godine)	61.9 ± 12.7	60.4 ± 13.4	0.628†
Pušenje (N, %)	7 (17.5)	11 (27.5)	0.287*
Konzumacija alkohola (N, %)	8 (20.0)	5 (12.5)	0.546‡
Endoskopski nalaz			
Gastritis	32 (80.0)	33 (82.5)	0.503‡
Želučani ulkus	5 (12.5)	5 (12.5)	
Duodenalni ulkus	2 (5.0)	0 (0.0)	
Duodenitis	1 (2.5)	2 (5.0)	

Podatci su prikazani kao cijeli brojevi i postotci ili kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

*hi-kvadrat test

†t-test za nezavisne uzorke

‡ Fisherov egzaktni test



Slika 3. Dijagram tijeka istraživanja

4.2. Ishodi

4.2.1. Stopa eradikacije i antimikrobne rezistencije

Na temelju ITT (engl. Intention-to-treat) analize, stope eradikacije H. pylori bile su 70 % (28/40; 95 % CI: 55,8-84,2) u konkomitantnoj skupini i 90 % (36/40; 95 % CI : 85,0-100,0) u ciljanoj terapijskoj skupini (P = 0,010). U sklopu PP (engl. Per-protocol) analize, stope eradikacije bile su 87,5% (28/32; 95% CI: 76,1-98,9) u konkomitantnoj skupini i 100,0% (36/36;/) u ciljanoj skupini (P = 0,030) (Tablica 4.). Ukupno 40 sojeva analizirano je na antimikrobnu osjetljivost. Stopa rezistencije među sojevima bila je 37,5% (n=15) na klaritromicin, 17,5% (n=7) na metronidazol, 5% (n=2) na levofloksacin i niti jedan soj nije bio otporan na amoksicilin. Dvostruka rezistencija je otkrivena na klaritromicin i metronidazol u 10% (n=4) sojeva i na klaritromicin i levofloksacin u 5% (n=2) sojeva. Bilo je 52,5% (n=21) sojeva osjetljivih na sve ispitane antimikrobne lijekove (Tablica 5.).

Tablica 4. Klinički ishod ispitanika

Parametar	**Konkomitantna terapija (N=40, %)**	**Ciljana terapija (N=40, %)**	***P****
Eradikacijska stopa			
Intention-to-treat (%; 95% CI)	28/40 (70.0; 55.8–84.2)	37/40 (92.5; 85.0–100.0)	0.010
Per-protocol (%; 95% CI)	28/32 (87.5; 76.1–98.9)	36/36 (100.0; /)	0.030
Suradljivost >80%	34/40 (85.0)	36/40 (90.0)	0.502
Neželjeni učinci	13/40 (32.5)	3/40 (7.5)	0.006†

***hi-kvadrat test**

†Fisherov egzaktni test

Tablica 5. Antimikrobna rezistencija u ispitanika

Antimikrobni lijek	Sojevi testirani (N)	Primarna antibiotska rezistencija n (%)
Klaritromicin	40	15 (37.5)
Metronidazol	40	7 (17.5)
Levofloksacin	40	2 (5)
Amoksicilin	40	0 (0)
Dvojna rezistencija		
Klaritromicin, Metronidazol	40	4 (10)
Klariromicin, Levofloksacin	40	2 (5)

Podatci su prikazani kao cijeli brojevi i postotci

4.2.2. Suradljivost i neželjeni događaji

Nije bilo značajne razlike u stopi suradljivosti između dvije skupine (p=0,502). Šest bolesnika u konkomitantnoj skupini i četiri bolesnika u personaliziranoj, ciljanoj skupini imalo je stopu suradljivosti ispod 80 %. Nuspojave su se javljale značajno češće u konkomitantnoj nego u ciljanoj skupini (32,5 % naspram 7,5 %, P = 0,006). Konkomitantna skupina također je imala značajno niže prilagođene izglede nuspojava (aOR 0,16, 95% CI 0,04-0,62, P = 0,0329). Mučnina je bila najčešća nuspojava u obje skupine (17,5 % odnosno 7,5 %), kako je prikazano u tablici 6. Prema stupnju ozbiljnosti, većina nuspojava je bila blaga u obje skupine (10/40 u konkomitantnoj i 2/40 u ciljanoj skupini). Također, tri bolesnika u skupini s konkomitantnom terapijom i jedan u ciljanoj terapijskoj skupini doživjeli su umjerene nuspojave, ali bez potrebe za posebnom intervencijom ili hospitalizacijom (Tablica 7).

Tablica 6. Neželjeni učinci kod ispitanika†

Parameter	Konkomitantna terapija (N=40)	Ciljana terapija (N=40)	*P**
Mučnina	7 (17.5)	3 (7.5)	0.311
Želučana bol	1 (2.5)	0 (0.0)	0.998
Kožni Osip	2 (5.0)	0 (0.0)	0.493
Metalni okus	2 (5.0)	0 (0.0)	0.493
Glavobolja	1 (2.5)	0 (0.0)	0.998
Dijareja	1 (2.5)	0 (0.0)	0.998
Naslage na jeziku	1 (2.5)	0 (0.0)	0.998

Podatci su prikazani kao cijeli brojevi i postotci

*** Fisherov egzaktni test**

† neki ispitanici su imali više od jednog neželjenog učinka

Tablica 7. Analiza stupnja težine neželjenih učinaka

Neželjeni učinak†	Konkomitantna terapija (N=40)	Ciljana terapija (N=40)	*P**
Bez	27 (67.5)	37 (92.5)	0.019
Blagi	10 (25.0)	2 (5.0)	
Umjereni	3 (7.5)	1 (2.5)	

Podatci su prikazani kao cijeli brojevi i postotci

*** Fisherov egzaktni test**

† teški neželjeni učinci nisu prijavljeni

5. RASPRAVA

Ovo je prvo randomizirano kliničko ispitivanje koje uspoređuje ciljanu personaliziranu i konkomitantnu terapiju u Hrvatskoj. Naša studija je pokazala da personalizirani pristup liječenju *H. pylori* nudi bolje rezultate u usporedbi s konkomitantnom terapijom. Također, naše kliničko ispitivanje otkrilo je visoku primarnu rezistenciju na klaritromicin i metronidazol te rastuću stopu dvostruke rezistencije. Glavni cilj ovog istraživanja bio je razraditi optimalan terapijski pristup u liječenju infekcije *H. pylori* u splitsko-dalmatinskoj regiji Hrvatske jer je utvrđeno da je rezistencija na klaritromicin u Splitsko-dalmatinskoj županiji iznad 20 %, uz relativno nisku razinu rezistencije na metronidazol od 10,2 % (20). Stoga se standardna trostruka terapija ne preporučuje kao prva linija liječenja (10). Kao što je navedeno u smjernicama Maastricht V, u područjima s visokom (>15 %) rezistencijom na klaritromicin preporučuje se četverostruka terapija bizmutom ili četverostruka terapija bez bizmuta (21). Konkomitantna terapija se sada često smatra prvom linijom eradikacijskog liječenja, zbog visoke stope eradikacije, koja u nekim područjima prelazi 90 % (14). Standardno trajanje konkomitantne terapije je od 10 do 14 dana, što uključuje IPP i tri antibiotika – amoksicilin, metronidazol, klaritromicin, koji se koriste u ukupnom trajanju liječenja. To može dovesti do povećanja rezistencije na antibiotike i zlouporabe antibiotika (6). To pak može objasniti povećanje otpornosti sojeva koje smo primijetili u našem ispitivanju u usporedbi s prethodnim podacima o testovima osjetljivosti u našoj regiji. Nadalje, kao što sugeriraju smjernice iz Maastrichta i Toronta, konkomitantna terapija ovisi o trajanju, s poželjnim trajanjem od 14 dana u prvom pokušaju, osobito u područjima s visokom rezistencijom na klaritromicin (21,22). U međuvremenu, sekvencijalna terapija, prvi put uvedena kao alternativa trostrukoj terapiji, bila je uobičajena prva linija liječenja u Hrvatskoj (16,20). Međutim, primjena sekvencijalne terapije pokazala je ograničenja. U područjima s visokom rezistencijom na klaritromicin sekvencijalna terapija može biti manje učinkovita od konkomitantne terapije (14). Učinkovitost sekvencijalne terapije značajno opada kada su sojevi *H. pylori* bili rezistentni na klaritromicin, čak i do 70 %, kako su predstavili Liou i sur. (210). Također postoje dokazi da rezistencija na metronidazol utječe na sekvencijalnu terapiju (206). Međutim, kako je naša studija pokazala, personalizirani pristup ima bolju učinkovitost i nižu učestalost štetnih posljedica u usporedbi sa standardnim empirijskim pristupom. Ovaj nalaz ima sve veći značaj u kontekstu viših razina antimikrobne rezistencije. U posljednje vrijeme učinkovitost eradikacijskih režima smanjuje se i približno 30-40 % bolesnika zahtijeva terapiju druge linije (11). Također, postoji značajan problem uspjeha eradikacijske terapije druge i treće linije zbog, također, povećanja rezistencije na antibiotike. Trenutačno, Maastricht V konsenzus preporučuje korištenje ispitivanja osjetljivosti soja *H. pylori* na antimikrobne lijekove samo nakon neuspjeha liječenja druge linije (21,22). Međutim, rezultati meta-analize Chena i

suradnika pokazuju bolju uspješnost eradikacije personaliziranim pristupom u prvoj liniji nego empirijskim režimima, čime se snažno sugerira personalizirani pristup kao alternativni izbor prve linije eradikacije (221). Taj se rezultat jasno uključuje u širi kontekst personaliziranog, individualnog pristupa liječenju bolesnika. To naglašava trenutni deficit u liječenju *H. pylori* jer je to jedina zarazna bolest koja se liječi empirijski, a ne prema osjetljivosti pojedinačnih sojeva na antimikrobne lijekove (11).

Kao što je spomenuto, naša studija je pokazala visoku i rastuću rezistenciju na klaritromicin i metronidazol (37,5% odnosno 17,5%). Dvostruka rezistencija na oba ova antibiotika također raste (10%). Ovi rezultati su vrlo značajni s obzirom na činjenicu da konkomitantna terapija može imati nižu učinkovitost u područjima s visokom dvostrukom rezistencijom ili visokom rezistencijom na metronidazol (20). Rezultati jedne meta-analize pokazali su da je stopa eradikacije konkomitantne terapije bila samo 33,3-66,7 % za sojeve s dvostrukom rezistencijom na klaritromicin-metronidazol (215). Kako bi se prevladali ovi problemi, predložene su druge četverostruke terapije, kao što su sekvencijalna i hibridna. Međutim, postoje izvješća koja pokazuju povećanu prevalenciju rezistencije na kinolone u posljednjem desetljeću, a taj je problem potaknut činjenicom da ne postoji učinak ovisan o dozi prevladavanja rezistencije na kinolone za razliku od metronidazola (223). U toj postavci stope eradikacije koje smo postigli u našoj studiji i u skupini s namjerom liječenja i po protokolu (92,5 % odnosno 100 %) jasno pokazuju da je ciljani pristup jedina vrsta liječenja koja postiže visoku stopu eradikacije dok istodobno smanjuje problem potencijalnog neuspjeha empirijskog liječenja prve ili druge linije koji generira veće buduće stope antimikrobne rezistencije.

Sekundarni ciljevi studije bili su utvrditi podnošljivost ovih terapijskih protokola na temelju suradljivosti i pojave štetnih događaja. U svim terapijskim režimima, stopa suradljivosti mogla bi biti još jedan potencijalni čimbenik za eventualni neuspjeh liječenja eradikacije. U našem istraživanju, u obje skupine, stopa suradljivosti bila je više nego zadovoljavajuća, bez značajne razlike, iako smo očekivali bolju suradljivost u ciljanoj skupini, s obzirom na manji broj antibiotika. Kao što smo očekivali, manja upotreba antibiotika rezultirala je manjim brojem nuspojava. Pokazali smo značajno veću stopu nuspojava u konkomitantnoj nego u ciljanoj skupini, pri čemu je mučnina bila najčešća nuspojava u obje skupine. Naši rezultati jasno se ugrađuju u širu skupinu rezultata koji pokazuju povoljan učinak smanjenja unosa antibiotika (14). Nije bilo razlika u specifičnim nuspojavama među skupinama. Nuspojave su bile blage prema stupnju ozbiljnosti, a tri bolesnika koja su imala umjerene događaje bila su u konkomitantnoj skupini, a jedan je bio u personaliziranoj

skupini. Nadalje, personalizirana skupina imala je značajno niže prilagođene izglede štetnih događaja.

Iako je ovo prvo randomizirano kliničko ispitivanje koje uspoređuje ciljanu personaliziranu i konkomitantnu terapiju u Hrvatskoj, naša studija ima nekoliko ograničenja. Dobro je utvrđena činjenica da in vitro ispitivanje osjetljivosti ne odgovara uvijek eradikaciji in vivo, čime se ograničava potencijalni uspjeh eradikacije u svim okruženjima. Također, sve je veći problem troškova zdravstvene zaštite pri čemu bi dodatni troškovi uzorkovanja i mikrobiološkog ispitivanja mogli predstavljati problem sa stajališta ekonomije zdravstvene zaštite. Infekcija višestrukim sojevima *H. pylori* mogla bi utjecati na uspjeh stope eradikacije čime bi se ograničila vrijednost ciljanog pristupa (8,9). Naša studija ima i neke metodološke nedostatke. Ograničena je malom veličinom uzorka i stoga ima ograničenu statističku važnost. Jasno je da ne predstavlja multicentrično istraživanje. Stoga bismo trebali naglasiti da bi multicentrične randomizirane kontrolirane studije trebale biti prioritet u procjeni pune vrijednosti ciljanog pristupa. Drugo, ova je studija osmišljena kao otvorena, što može povećati potencijalni rizik od pristranosti. Iako je većina sličnih kliničkih ispitivanja *H. pylori* otvorena, slijepe studije nužne su za izbjegavanje potencijalne pristranosti. Konačno, ova studija nije osmišljena kao neinferiorna, što bi moglo utjecati na njezinu zaključnost. Stoga bi trebalo provesti ispitivanje neinferiornosti za daljnju usporedbu ova dva protokola, s većom veličinom uzorka. Ipak, ciljanu terapiju u eri personalizirane medicine treba promatrati kao potencijalni budući pristup u kliničkoj praksi. S obzirom na činjenicu da naša regija ima stopu rezistencije na klaritromicin iznad 20 %, rezultati ovog istraživanja mogli bi biti primjenjivi na regije sa sličnim problemom.

Zaključno, ciljana terapija temeljena na ispitivanju osjetljivosti na antibiotike pokazuje značajno veću stopu eradikacije od usporedivog empirijskog liječenja. Stoga bi ova terapija mogla pomoći u postizanju boljih rezultata eradikacije i promoviranju personaliziranog pristupa medicine budućim pacijentima u našoj regiji. S obzirom na manji broj antibiotika, manje nuspojava i veću stopu eradikacije, predlažemo da bi ciljana personalizirana terapija mogla biti prva linija liječenja u područjima s visokom rezistencijom na klaritromicin. Stoga potičemo daljnje veće multicentrične studije kako bi se istražio potencijal ovog novog pristupa.

6. ZAKLJUČCI

1. Utvrđena je statistički značajna razlika između učinkovitosti konkomitantne (stopa eradikacije 70% u ITT analizi te 87.5% u PP analizi) i personalizirane terapije (stopa eradikacije 90% u ITT analizi te 100% PP analizi) u liječenju *H. pylori* infekcije.

2. Nije pronađena statistički značajna razlika u suradljivosti između bolesnika koji su liječeni konkomitantnom terapijom u odnosu na bolesnike koji su liječeni personaliziranom terapijom.

3. Učestalost nuspojava statistički je značajno veća u bolesnika koji su liječeni konkomitantnom terapijom u odnosu na bolesnike koji su liječeni personaliziranom terapijom.

4. Utvrđena je visoka i rastuća rezistencija na klaritromicin i metronidazol (37,5% odnosno 17,5%). Dvostruka rezistencija na oba ova antibiotika također raste (10%).

Suvremeni pristup liječenja *H. pylori* temelji se na podatcima o rezistenciji na antibiotike te izbor prve linije terapije uvelike određuje podatak o rezistenciji na klaritromicin u pojedinoj regiji. U regijama s visokom rezistencijom na klaritromicin mogući prvi izbor terapije jest četverostruka konkomitantna terapija. Dosadašnje spoznaje ukazuju na dobar eradikacijski učinak konkomitantne terapije. Međutim, rastući problem antibiotske rezistencije uvjetuje orijentaciju ka novim uspješnijim terapijama. Također, definiranje infekcije *H. pylori* kao zarazne bolesti u kontekstu razvjoa personalizirane medicine naglašava potrebu ciljanog pristupa i u liječenju ove bolesti, što do sada s obzirom na prevlast empirijskog pristupa nije bio slučaj. Manji broj uključenih antibiotika u ciljanom eradikacijskom protokolu ima za posljedicu i manji broj nuspojava te bolju suradljivost, zbog čega se ciljana terapija sugerira kao moguća alternativa konkomitantnoj terapiji. Naši rezultati jasno ukazuju na bolju eradikacijsku stopu u ciljanoj skupini, čime se zadovoljava kriterij uspješne eradikacijske terapije (90% u ITT te 100% u PP analizi). Znanstveni doprinos očituje se u boljem definiranju učinkovitosti terapijskih protokola u liječenju *H. pylori* infekcije pogotovo u Splitsko-dalmatinskoj županiji. Budući da ciljana terapija, koja uključuje manji broj antibiotika, pokazuje bolju eradikacijsku stopu nego konkomitantna te manje učestale nuspojave, predlažemo da upravo ciljana personalizirana terapija bude eradikacijski protokol prvog izbora u područjima visoke rezistencije na klaritromicin. Daljnje studije su potrebne kako bi se istražio potencijalni benefit korištenja ciljane terapije u odnosu na medicinsku ekonomiku te dostupnost novih PCR testova.

7. SAŽETAK

Primarni cilj ovog istraživanja bio je usporediti konkomitantnu četverostruku terapiju s ciljanom personaliziranom terapijom kao eradikacijskim liječenjem prve linije infekcije *H. pylori* u Splitsko-dalmatinskoj regiji Hrvatske u kojoj postoji visoka rezistencija na klaritromicin (>20%). Sekundarni cilj bio je usporediti usklađenost i stopu štetnih događaja između ova dva terapijska režima.

MATERIJALI I METODE

U otvorenom, randomiziranom kliničkom ispitivanju, provedenom između siječnja 2019. i siječnja 2020. 80 pacijenata s infekcijom *H. pylori* nasumično je dobilo ili četverostruku konkomitantnu terapiju (esomeprazol 40 mg, amoksicilin 1 gr, metronidazol 500 mg, klaritromicin 500 mg dva puta dnevno tijekom 14 dana) ili personaliziranu terapiju u skladu s rezultatima ispitivanja osjetljivosti na antimikrobne lijekove. Status eradikacije procijenjen je 4 tjedna nakon liječenja.

REZULTATI

Stope eradikacije bile su značajno veće u ciljanoj skupini nego u konkomitantnoj skupini, kako u ITT analizi (70 prema 92,5%, p<0,01) tako i u PP analizi (87,5 naspram 100%, p<0,03%) u okruženju povećane rezistencije na antibiotike (klaritromicin 37,5%, metronidazol 17,5%, dvostruka rezistencija 10%). Nuspojave su bile češće u konkomitantnoj skupini (32,5 naspram 7,5%, p<0,006). Nije bilo značajne razlike među skupinama u pogledu stope suradljivosti.

ZAKLJUČCI

Ciljanom personaliziranom terapijom postiže se veća eradikacija uz nižu stopu nuspojava. U uvjetima sve veće rezistencije sojeva *H. pylori* na primijenjene antibiotike, eradikacijske režime s takvim karakteristikama treba snažno smatrati razumnim izborom za liječenje prve linije.

8. SUMMARY

The primary objective of this study was to compare concomitant quadruple with the tailored, personalized therapy as first-line eradication treatment of *H. pylori* infection in Split-Dalmatia region of Croatia in which there is a high clarithromycin resistance (>20%). The secondary objective was to compare the compliance and adverse events rate between these two therapeutic regimes.

MATERIALS AND METHODS

In an open-label,randomised clinical trial, conducted between January 2019 and January 2020, 80 patients with H.pylori infection were randomly assigned to either concomitant (esomeprazole 40 mg, amoxicillin 1 gr, metronidazole 500 mg, clarithromycin 500 mg, twice daily for 14 days) or tailored therapy in accordance with the results of the antimicrobial susceptibility testing. Eradication status was assessed 4 weeks after treatment.

RESULTS

Eradication rates were significantly higher in tailored group than in concomitant group both in intention-to-treat (70 vs. 92.5%, $p<0.01$) and per-protocol (87.5 vs. 100%, $p<0.03\%$) analysis in a setting of increasing antibiotic resistance (clarithromycin 37.5%, metronidazole 17.5%, dual resistance 10 %). Adverse effects were more frequent in the concomitant group (32.5 vs. 7.5%, $p<0.006$). There was no significant difference among groups regarding compliance rate.

CONCLUSIONS

Tailored therapy achieves higher eradication with lower adverse events rate. In the setting of increasing resistance of *H. pylori* strains to antibiotic treatment eradication regimes with such characteristics should be strongly considered as a reasonable choice for first-line treatment.

9. LITERATURA

1. Megraud F. A humble bacterium sweeps this year's Nobel Prize. Cell. 2005;123:975–976.
2. Graham DY, Fischbach L. Helicobacter pylori treatment in the era of increasing of antibiotic resistance. Gut 2010;59:1143-53.
3. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieu- lent J, Jemal A. Global Cancer Statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015; 65 (2): 87–108. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attribu- table to Helicobacter pylori. Int J Cancer. 2015; 136 (2): 487–90.
4. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attribu- table to infections in 2008: a review and synthetic analysis. Lancet Oncol. 2012; 13 (6): 607–15.
5. Sugano K, Tack J, Kuipres E J, et al. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis[J]. Gut, 2015, 64(9):1353-1367.
6. Wueppenhorst N, Draeger S, Stueger H-P, Ho- bmaier B, Vorreiter J, Kist M, et al. Prospective multicentre study on antimicrobial resistance of Helicobacter pylori in Germany. J Antimicrob Chemother. 2014; 69 (11): 3127–33.
7. Tonkic A, Tonkic M, Brnic D, Novak A, Puljiz Z, Simunic M. Time trends of primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates in Southern Croatia. J Chemother. 2012 Jun;24(3):182-4.
8. Lee HJ, Kim JI, Cheung DY, Kim TH, Jun EJ, Oh J-H, et al. Eradication of Helicobacter pylori ac- cording to 23S ribosomal RNA point mutations associated with clarithromycin resistance. J Infect Dis. 2013; 208 (7): 1123–30.
9. Zhou L,Zhang J,Song Z,He L,LiY,Qian J,et al. Tailored versus triple plus bismuth or concomitant therapy as initial Helicobacter pylori treatment: a randomized trial. Helicobacter. 2015; 21 (2): 91–9.
10. Lee JY, Choi YJ, Yoon K, Nam RH, Suh JH, Lee JW, Lee DH. Comparison of the efficacy of culture-based tailored therapy for Helicobacter pylori eradication with that of the traditional second-line rescue therapy in Korean patients: a prospective single tertiary center study. Scand J Gastroenterol. 2016 Mar;51(3):270-6.
11. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, López-Brea M, Hirschl AM, et al. Helicobacter pylori resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. Gut. 2012; 62 (1): 34–42.
12. Gisbert JP, Calvet X. Review article: non-bismuth quadruple (concomitant) therapy for Helicobacter pylori eradication. Aliment Pharmacol There 20111;34:604-17.

13. Mestrovic A, Perkovic N, Bozic J, Pavicic Ivelja M, Vukovic J, Kardum G, et al. (2020) Randomised clinical trial comparing concomitant and hybrid therapy for eradication of Helicobacter pylori infection. PLoS ONE 15(12): e0244500.
14. Lee HJ, Kim JI, Lee JS, et al. Concomitant therapy achieved the best eradication rate for Helicobacter pylori among various treatment strategies. World Journal of Gastroenterology. 2015;21(1):351-359.
15. Gisbert JP, Calvet X. Update on non-bismuth quadruple (concomitant) therapy for eradication of Helicobacter pylori. Clin Exp Gastroenterol 2012;5:23-34.
16. Megraud F, Lehours P. Helicobacter pylori detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Rev. 2007; 20 (2): 280–322.
17. Romano M, Iovene MR, Montella F, Vitale LM, De Simone T, Del Vecchio Blanco C. Pretreatment antimicrobial-susceptibility testing in the eradication of H. pylori infection. Am J Gastroenterology. 2000; 95 (11): 3317–8.
18. Tonkic A, Tonkic M, Brnic D, Novak A, Puljiz Z, Simunic M. Time trends of primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates in Southern Croatia. J Chemother. 2012 Jun;24(3):182-4.
19. Dolinar U, Plut S, Štabuc B, Homan M, Tepeš B, Jeverica S. Primary and secondary resistance of Helicobacter pylori in Slovenia, 2011-2014. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2015 April 25-28; Copenhagen, Denmark. Available from: https://www.escmid. org/escmid_publications/escmid_elibrary/.
20. Tonkić M, Tonkić A, Goić-Barisić I, Jukić I, Simunić M, Punda-Polić V. Primary resistance and antibiotic minimum inhibitory concentrations for Helicobacter pylori strains, in Split, Croatia. J Chemother. 2006 Aug;18(4):437-9.
21. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA et al. Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel. Gut. 2017 Jan;66(1):6-30. doi: 10.1136/ gutjnl-2016-312288. Epub 2016 Oct 5.
22. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Ather- ton J, Axon ATR, Bazzoli F, et al. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut. 2012; 61 (5): 646–64.
23. Marshall BJ, Royce H, Annear DI, Goodwin CS, Pearman JW, Warren JR i sur. Original isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa. Microbios Lett. 1984;25:83- 8.

24. Marshall BJ, Goodwin CS. Revised nomenclature of Campylobacter pyloridis. Int J Syst Bacteriol. 1987;37:68.
25. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L i sur. Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov., Respectively. Int J Syst Bacteriol. 1989;39:397-405.
26. Bento-Miranda M, Figueiredo C. Helicobacter heilmannii sensu lato: an overview of the infection in humans. World J Gastroenterol. 2014;20:17779-87.
27. van der Mee-Marquet NL, Bénéjat L, Diene SM, Lemaignen A, Gaïa N, Smet A i sur. A Potential New Human Pathogen Belonging to Helicobacter Genus, Identified in a Bloodstream Infection. Front Microbiol. 2017;8:2533.
28. Li H, Liao T, Debowski AW, Tang H, Nilsson HO, Stubbs KA i sur. Lipopolysaccharide Structure and Biosynthesis in Helicobacter pylori. Helicobacter. 2016;21:445-61.
29. Semeraro N, Montemurro P, Piccoli C, Muolo V, Colucci M, Giuliani G i sur. Effect of Helicobacter pylori lipopolysaccharide (LPS) and LPS derivatives on the production of tissue factor and plasminogen activator inhibitor type 2 by human blood mononuclear cells. J Infect Dis. 1996;174:1255-60.
30. Beales IL, Calam J. Inhibition of carbachol stimulated acid secretion by interleukin 1beta in rabbit parietal cells requires protein kinase C. Gut. 2001;48:782-9.
31. Ricci V. Relationship between VacA Toxin and Host Cell Autophagy in Helicobacter pylori Infection of the Human Stomach: A Few Answers, Many Questions. Toxins (Basel). 2016;8:203.
32. Meyer-Rosberg K, Scott DR, Rex D, Melchers K, Sachs G. The effect of environmental pH on the proton motive force of Helicobacter pylori. Gastroenterology. 1996;111:886-900.
33. Göõz M, Hammond CE, Larsen K, Mukhin YV, Smolka AJ. Inhibition of human gastric H(+)-K(+)-ATPase alpha-subunit gene expression by Helicobacter pylori. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2000;278:981-91.
34. Li H, Xia JQ, Zhu FS, Xi ZH, Pan CY, Gu LM i sur. LPS promotes the expression of PD- L1 in gastric cancer cells through NF-κB activation. J Cell Biochem. 2018;119:9997-10004.
35. Zhuang Y, Shi Y, Liu XF, Zhang JY, Liu T, Fan X i sur. Helicobacter pylori-infected macrophages induce Th17 cell differentiation. Immunobiology. 2011;216:200-7.

36. Fazeli Z, Alebouyeh M, Rezaei Tavirani M, Azimirad M, Yadegar A. Helicobacter pylori CagA induced interleukin-8 secretion in gastric epithelial cells. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2016;9:42-6.
37. Kandulski A, Malfertheiner P, Wex T. Role of regulatory T-cells in H. pylori-induced gastritis and gastric cancer. Anticancer Res. 2010;30:1093-103.
38. Velin D, Michetti P. Immunology of Helicobacter pylori infection. Digestion. 2006;73:116-23.
39. Moyat M, Velin D. Immune responses to Helicobacter pylori infection. World J Gastroenterol. 2014;20:5583-93.
40. Zambon CF, Navaglia F, Basso D, Rugge M, Plebani M. Helicobacter pylori babA2, cagA, and s1 vacA genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. J Clin Pathol. 2003;56:287-91.
41. Inagaki T, Nishiumi S, Ito Y, Yamakawa A, Yamazaki Y, Yoshida M i sur. Associations Between CagA, VacA, and the Clinical Outcomes of Helicobacter Pylori Infections in Okinawa, Japan. Kobe J Med Sci. 2017;63:58-67.
42. Román-Román A, Martínez-Carrillo DN, Atrisco-Morales J, Azúcar-Heziquio JC, Cuevas-Caballero AS, Castañón-Sánchez Ca i sur. Helicobacter pylori vacA s1m1 genotype but not cagA or babA2 increase the risk of ulcer and gastric cancer in patients from Southern Mexico. Gut Pathog. 2017;9:18.
43. Ferreira RM, Machado JC, Figueiredo C. Clinical relevance of Helicobacter pylori vacA and cagA genotypes in gastric carcinoma. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2014;28:1003
44. Saha A, Hammond CE, Beeson C, Peek RM Jr, Smolka AJ. Helicobacter pylori represses proton pump expression and inhibits acid secretion in human gastric mucosa. Gut. 2010;59:874-81.
45. Shin JM, Munson K, Vagin O, Sachs G. The gastric HK-ATPase: structure, function, and inhibition. Pflugers Arch. 2009;457:609-22.
46. Zaki M, Coudron PE, McCuen RW, Harrington L, Chu S, Schubert ML. H. pylori acutely inhibits gastric secretion by activating CGRP sensory neurons coupled to stimulation of somatostatin and inhibition of histamine secretion. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013;304:715-22.
47. Gillen D, el-Omar EM, Wirz AA, Ardill JE, McColl KE. The acid response to gastrin distinguishes duodenal ulcer patients from Helicobacter pylori-infected healthy subjects. Gastroenterology. 1998;114:50-7.

48. Derakhshan MH, El-Omar E, Oien K, Gillen D, Fyfe V, Crabtree JE, McColl KE. Gastric histology, serological markers and age as predictors of gastric acid secretion in patients infected with Helicobacter pylori. J Clin Pathol. 2006;59:1293-9.
49. Kuipers EJ, Uyterlinde AM, Peña AS, Hazenberg HJ, Bloemena E, Lindeman J i sur. Increase of Helicobacter pylori-associated corpus gastritis during acid suppressive therapy: implications for long-term safety. Am J Gastroenterol. 1995;90:1401-6.
50. de Vries AC, van Grieken NC, Looman CW, Casparie MK, de Vries E, Meijer GA i sur. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands. Gastroenterology. 2008;134:945-52.
51. Malfertheiner P. The intriguing relationship of Helicobacter pylori infection and acidsecretion in peptic ulcer disease and gastric cancer. Dig Dis. 2011;29:459-64.
52. Takeuchi R, Kato K, Mizuno S, Kawamura Y, Kawamura F, Iwasaki A i sur. Abnormal gastroesophageal flap valve is highly associated with endoscopic reflux esophagitis after Helicobacter pylori eradication. Helicobacter. 2004;9:1-8.
53. Inoue H, Imoto I, Taguchi Y, Kuroda M, Nakamura M, Horiki N i sur. Reflux esophagitis after eradication of Helicobacter pylori is associated with the degree of hiatal hernia. Scand J Gastroenterol. 2004;39:1061-5.

86. Kuipers EJ, Thijs JC, Festen HP. The prevalence of Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. Aliment Pharmacol Ther. 1995;9 Suppl 2:59-69.

54. Tham TC, Chen L, Dennison N, Johnston CF, Collins JS, Ardill JE i sur. Effect of Helicobacter pylori eradication on antral somatostatin cell density in humans. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1998;10:289-91
55. Van Zanten SJ, Dixon MF, Lee A. The gastric transitional zones: neglected links between gastroduodenal pathology and helicobacter ecology. Gastroenterology. 1999;116:1217-29.
56. Sipponen P, Varis K, Fräki O, Korri UM, Seppälä K, Siurala M. Cumulative 10-year risk of symptomatic duodenal and gastric ulcer in patients with or without chronic gastritis. A clinical follow-up study of 454 outpatients. Scand J Gastroenterol. 1990;25:966-73.
57. Pezzi JS, Shiau YF. Helicobacter pylori and gastrointestinal disease. Am Fam Physician. 1995;52:1717–1724, 1729.
58. Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Knol EC, Havu N, Festen HP, Liedman B i sur. Atrophic gastritis and Helicobacter pylori infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. N Engl J Med. 1996;334:1018-22.

59. Aoyama N, Shinoda Y, Matsushima Y, et al. Helicobacter pylori- negative peptic ulcer in Japan: which contributes most to peptic ulcer development, Helicobacter pylori, NSAIDS or stress? J Gastro- enterol 2000;35(suppl 12):33–37.
60. Fischbach W, Malfertheiner P, Lynen Jansen P, Bolten W, Bornschein J, Buderus S i sur. S2k-guideline Helicobacter pylori and gastroduodenal ulcer disease. Z Gastroenterol 2017;54: 167-206.
61. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res. 1992;52:6735-40.
62. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. Lancet. 1975;2:58-60.
63. Kuipers EJ. Review article: exploring the link between Helicobacter pylori and gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther. 1999;13:3-11.
64. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. Prz Gastroenterol. 2019;14:26-38.
65. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68:394-424.
66. Mukaisho K, Nakayama T, Hagiwara T, Hattori T, Sugihara H. Two distinct etiologies of gastric cardia adenocarcinoma: interactions among pH, Helicobacter pylori, and bile acids. Front Microbiol. 2015;6:412.
67. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965;64:31-49.
68. Petrelli F, Berenato R, Turati L, Mennitto A, Steccanella F, Caporale M i sur. Prognostic value of diffuse versus intestinal histotype in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. J Gastrointest Oncol. 2017;8:148-163.
69. Mapstone NP, Lynch DA, Lewis FA, et al. Identification of Helicobacter pylori DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. J Clin Pathol. 1993;46:540–543.
70. Calam J, Gibbons A, Healey ZV, et al. How does Helicobacter pylori cause mucosal damage? Its effect on acid and gastrin physiology. Gastroenterology. 1997;113:S43–S49.
71. Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH. Role of Helicobacter pylori infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. Lancet. 2002;359:14–22

72. Chan FK, To KF, Wu JC, et al. Eradication of Helicobacter pylori and risk of peptic ulcers in patients starting long-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a randomised trial. Lancet. 2002;359:9–13.
73. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19:449–490.
74. Hunt RH, Bazzoli F. Review article: should NSAID/low-dose aspirin takers be tested routinely for H. pylori infection and treated if positive? Implications for primary risk of ulcer and ulcer relapse after initial healing. Aliment Pharmacol Ther. 2004;19 (suppl 1):9–16.
75. Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ. 2014;348:g3174.
76. Shiotani A, Uedo N, Iishi H, Yoshiyuki Y, Ishii M, Manabe N i sur. Predictive factors for metachronous gastric cancer in high-risk patients after successful Helicobacter pylori eradication. Digestion. 2008;78:113-9.
77. Puspok A, Raderer M, Chott A, et al. Endoscopic ultrasound in the follow up and response assessment of patients with primary gastric lymphoma. Gut. 2002;51:691–694.
78. Fischbach W, Goebeler-Kolve ME, Dragosics B, et al. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive Helicobacter pylori eradication therapy: experience from a large prospective series. Gut. 2004;53:34–37.
79. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multi- factorial process—First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res. 1992;52: 6735–6740.
80. Malfertheiner P, Peitz U. The interplay between Helicobacter pylori, gastro-oesophageal reflux disease, and intestinal metaplasia. Gut. 2005;54(suppl 1):i13–i20.
81. O'Connor HJ. Review article: Helicobacter pylori and gastro-oesophageal reflux disease-clinical implications and management. Aliment Pharmacol Ther. 1999;13:117-27.
82. Fallone CA, Barkun AN, Göttke MU, Best LM, Loo VG, Veldhuyzen van Zanten S i sur. Association of Helicobacter pylori genotype with gastroesophageal reflux disease and other upper gastrointestinal diseases. Am J Gastroenterol. 2000;95:659-69.

83. Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G. Relationship between Helicobacter pylori infection and esophageal neoplasia: a meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007;5:1413-7.
84. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D i sur. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology. 2017;153:420-9.
85. Kotilea K, Bontems P, Touati E. Epidemiology, Diagnosis and Risk Factors of Helicobacter pylori Infection. Adv Exp Med Biol. 2019;1149:17-33.
86. Everhart JE, Kruszon-Moran D, Perez-Perez GI, Tralka TS, McQuillan G. Seroprevalence and ethnic differences in Helicobacter pylori infection among adults in the United States. J Infect Dis. 2000;181:1359-63.
87. Cardenas VM, Mulla ZD, Ortiz M, Graham DY. Iron deficiency and Helicobacter pylori infection in the United States. Am J Epidemiol. 2006;163:127-34.
88. Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1994;61:1-241.
89. Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. Association of Helicobacter pylori infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. Am J Gastroenterol. 1999;94:2373-9.
90. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med. 2001;345:784-9.
91. Correa P, Piazuelo MB. Helicobacter pylori Infection and Gastric Adenocarcinoma. US Gastroenterol Hepatol Rev. 2011;7:59-64.
92. Kodaman N, Pazos A, Schneider BG, Piazuelo MB, Mera R, Sobota RS i sur. Human and Helicobacter pylori coevolution shapes the risk of gastric disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111:1455-60.
93. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D i sur. Childhood living conditions and Helicobacter pylori seropositivity in adult life. Lancet. 1992;339:896-7.
94. Chen Y, Segers S, Blaser MJ. Association between Helicobacter pylori and mortality in the NHANES III study. *Gut* 2013; 62: 1262-1269.

95. Wang ZW, Li Y, Huang LY, Guan QK, Xu DW, Zhou WK, Zhang XZ. Helicobacter pylori infection contributes to high risk of ischemic stroke: evidence from a meta-analysis. *J Neurol* 2012; 259: 2527-2537.
96. Alvarez-Arellano L, Maldonado-Bernal C. Helicobacter pylori and neurological diseases: Married by the laws of inflammation. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2014; 5: 400-404.
97. Huang WS, Yang TY, Shen WC, Lin CL, Lin MC, Kao CH. Association between Helicobacter pylori infection and dementia. *J Clin Neurosci* 2014; 21: 1355-1358.
98. Roubaud Baudron C, Letenneur L, Langlais A, Buissonnière A, Mégraud F, Dartigues JF, Salles N; Personnes Agées QUID Study. Does Helicobacter pylori infection increase incidence of dementia? The Personnes Agées QUID Study. *J Am Geriatr Soc* 2013; 61: 74-78.
99. Beydoun MA, Beydoun HA, Shroff MR, Kitner-Triolo MH, Zonderman AB. Helicobacter pylori seropositivity and cognitive performance among US adults: evidence from a large national survey. *Psychosom Med* 2013; 75: 486-496.
100. Goni E, Franceschi F. Helicobacter pylori and extragastric diseases. *Helicobacter* 2016; 21 Suppl 1: 45-48.
101. Kountouras J, Boziki M, Gavalas E, Zavos C, Deretzi G, Chatzigeorgiou S, Katsinelos P, Grigoriadis N, Giartza- Taxidou E, Venizelos I. Five-year survival after Helicobacter pylori eradication in Alzheimer disease patients. *Cogn Behav Neurol* 2010; 23: 199-204.
102. Kountouras J, Boziki M, Gavalas E, Zavos C, Grigoriadis N, Deretzi G, Tzilves D, Katsinelos P, Tsolaki M, Chatzopoulos D, Venizelos I. Eradication of Helicobacter pylori may be beneficial in the management of Alzheimer's disease. *J Neurol* 2009; 256: 758-767.
103. Attems J, Walker L, Jellinger KA. Olfactory bulb involvement in neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathol* 2014; 127: 459-475.
104. Shen X, Yang H, Wu Y, Zhang D, Jiang H. Meta-analysis: Association of Helicobacter pylori infection with Parkinson's diseases. *Helicobacter* 2017; 22: e12398.
105. Fasano A, Bove F, Gabrielli M, Petracca M, Zocco MA, Ragazzoni E, Barbaro F, Piano C, Fortuna S, Tortora A, Di Giacopo R,Campanale M, Gigante G, Lauritano EC, Navarra P, Marconi S, Gasbarrini A, Bentivoglio AR. The role of small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2013; 28: 1241-1249.

106.Huang HK, Wang JH, Lei WY, Chen CL, Chang CY, Liou LS. Helicobacter pylori infection is associated with an increased risk of Parkinson's disease: A population-based retrospective cohort study. *Parkinsonism Relat Disord* 2018; 47: 26-31.

107.Cook KW, Crooks J, Hussain K, O'Brien K, Braitch M, Kareem H, Constantinescu CS, Robinson K, Gran B. Helicobacter pylori infection reduces disease severity in an experimental model of multiple sclerosis. *Front Microbiol* 2015; 6: 52.

108.Mohebi N, Mamarabadi M, Moghaddasi M. Relation of helicobacter pylori infection and multiple sclerosis in Iranian patients. *Neurol Int* 2013; 5: 31-33.

109.Chang YP, Chiu GF, Kuo FC, Lai CL, Yang YH, Hu HM, Chang PY, Chen CY, Wu DC, Yu FJ. Eradication of Helicobacter pylori Is Associated with the Progression of Dementia: A Population- Based Study. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 175729.

110. Chiba S, Sugiyama T, Yonekura K, Tanaka S, Matsumoto H, Fujii N, Ebisu S, Sekiguchi K. An antibody to VacA of Helicobacter pylori in cerebrospinal fluid from patients with Guillain-Barre syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: 76-78.

111.Moran AP, Prendergast MM. Molecular mimicry in Campylobacter jejuni and Helicobacter pylori lipopolysaccharides: contribution of gastrointestinal infections to autoimmunity. *J Autoimmun* 2001; 16: 241-256.

112.Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, Camm AJ, Northfield TC. Relation of Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. Br Heart J. 1994 May;71(5):437-9.

113.Chen TP, Hung HF, Chen MK, Lai HH, Hsu WF, Huang KC, Yang KC. Helicobacter Pylori Infection is Positively Associated with Metabolic Syndrome in Taiwanese Adults: a Cross-Sectional Study. Helicobacter. 2015 Jun;20(3):184-91.

114.Xu XH, Shah PK, Faure E, Equils O, Thomas L, Fishbein MC, Luthringer D, Xu XP, Rajavashisth TB, Yano J, Kaul S, Arditi M. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL. *Circulation* 2001; 104: 3103-3108.

115.Libby P, Ridker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 2129-2138.

116.Vahdat K, Jafari SM, Pazoki R, Nabipour I. Concurrent increased high sensitivity C-reactive protein and chronic infections are associated with coronary artery disease: a population-based study. *Indian J Med Sci* 2007; 61: 135-143.

117.Khodaii Z, Vakili H, Ghaderian SM, Najar RA, Panah AS. Association of Helicobacter pylori infection with acute myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 2011; 22: 6-11.

118.Zhang S, Guo Y, Ma Y, Teng Y. Cytotoxin-associated gene- A-seropositive virulent strains of Helicobacter pylori and atherosclerotic diseases: a systematic review. *Chin Med J* (Engl) 2008; 121: 946-951.

119.Ikeda A, Iso H, Sasazuki S, Inoue M, Tsugane S; JPHC Study Group. The combination of Helicobacter pylori- and cytotoxin- associated gene-A seropositivity in relation to the risk of myocardial infarction in middle-aged Japanese: The Japan Public Health Center-based study. *Atherosclerosis* 2013; 230: 67-72.

120.Liu J, Wang F, Shi S. Helicobacter pylori Infection Increase the Risk of Myocardial Infarction: A Meta-Analysis of 26 Studies Involving more than 20,000 Participants. *Helicobacter* 2015; 20: 176-183.

121.Oldenburg B, Diepersloot RJ, Hoekstra JB. High seroprevalence of Helicobacter pylori in diabetes mellitus patients. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 458-461.

122.Begue RE, Mirza A, Compton T, Gomez R, Vargas A. Helicobacter pylori infection and insulin requirement among children with type 1 diabetes mellitus. Pediatrics. 1999 Jun;103(6):e83.

123.Wang X, Bao W, Liu J, Ouyang YY, Wang D, Rong S, Xiao X, Shan ZL, Zhang Y, Yao P, Liu LG. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2013; 36: 166-175.

124.Jeon CY, Haan MN, Cheng C, Clayton ER, Mayeda ER, Miller JW, Aiello AE. Helicobacter pylori infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35: 520-525.

125.Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2012; 38: 183-191.

126.Wang F, Fu Y, Lv Z. Association of Helicobacter pylori infection with diabetic complications: a meta-analysis. *Endocr Res* 2014; 39: 7-12.

127.Vafaeimanesh J, Parham M, Seyyedmajidi M, Bagherzadeh M. Helicobacter pylori infection and insulin resistance in diabetic and nondiabetic population. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 391250.

128.Aydemir S, Bayraktaroglu T, Sert M, Sokmen C, Atmaca H, Mungan G, Gun BD, Borazan A, Ustundag Y. The effect of Helicobacter pylori on insulin resistance. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2090-2093.

129.Pohjanen VM, Koivurova OP, Niemelä SE, Karttunen RA, Karttunen TJ. Role of Helicobacter pylori and interleukin 6 -174 gene polymorphism in dyslipidemia: a case-control study. BMJ Open. 2016 Jan 18;6(1):e009987.

130.Chen CX, Mao YS, Foster P, Zhu ZW, Du J, Guo CY. Possible association between Helicobacter pylori infection and nonalcoholic fatty liver disease. *Appl Physiol Nutr Metab* 2017; 42: 295-301.

131.Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Deretzi G. The association between Helicobacter pylori infection and insulin resistance: a systematic review. *Helicobacter* 2011; **16**: 79-88.

132.Boutari C, Perakakis N, Mantzoros CS. Association of Adipokines with Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinol Metab* (Seoul) 2018; 33: 33-43.

133.Fukuda Y, Bamba H, Okui M, Tamura K, Tanida N, Satomi M, Shimoyama T, Nishigami T. Helicobacter pylori infection increases mucosal permeability of the stomach and intestine. *Digestion* 2001; 63 Suppl 1: 93-96.

134.Sumida Y, Kanemasa K, Imai S, Mori K, Tanaka S, Shimokobe H, Kitamura Y, Fukumoto K, Kakutani A, Ohno T, Taketani H, Seko Y, Ishiba H, Hara T, Okajima A, Yamaguchi K, Moriguchi M, Mitsuyoshi H, Yasui K, Minami M, Itoh Y. Helicobacter pylori infection might have a potential role in hepatocyte ballooning in nonalcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol. 2015 Sep;50(9):996-1004.

135.Waluga M, Kukla M, Żorniak M, Bacik A, Kotulski R. From the stomach to other organs: Helicobacter pylori and the liver. *World J Hepatol* 2015; 7: 2136-2146.

136.Esmat G, El-Bendary M, Zakarya S, Ela MA, Zalata K. Role of Helicobacter pylori in patients with HCV-related chronic hepatitis and cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma: possible association with disease progression. J Viral Hepat. 2012 Jul;19(7):473-9.

137.Qu XH, Huang XL, Xiong P, Zhu CY, Huang YL, Lu LG, Sun X, Rong L, Zhong L, Sun DY, Lin H, Cai MC, Chen ZW, Hu B, Wu LM, Jiang YB, Yan WL. Does Helicobacter pylori

infection play a role in iron deficiency anemia? A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 886-896.

138.Lahner E, Persechino S, Annibale B. Micronutrients (Other than iron) and Helicobacter pylori infection: a systematic review. *Helicobacter* 2012; 17: 1-15.

139.Argenziano G, Donnarumma G, Iovene MR, Arnese P, Baldassarre MA, Baroni A. Incidence of anti-Helicobacter pylori and anti-CagA antibodies in rosacea patients. *Int J Dermatol* 2003; 42: 601-604.

140.El-Khalawany M, Mahmoud A, Mosbeh AS, A B D Alsalam F, Ghonaim N, Abou-Bakr A. Role of Helicobacter pylori in common rosacea subtypes: a genotypic comparative study of Egyptian patients. *J Dermatol* 2012; 39: 989-995.

141.Onsun N, Arda Ulusal H, Su O, Beycan I, Biyik Ozkaya D, Senocak M. Impact of Helicobacter pylori infection on severity of psoriasis and response to treatment. *Eur J Dermatol* 2012; 22: 117-120.

142.Rigopoulos D, Katsambas A, Karalexis A, Papatheodorou G, Rokkas T. No increased prevalence of Helicobacter pylori in patients with alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 141.

143.Ljubojevic S, Lipozenčić J. Autoimmune bullous diseases associations. *Clin Dermatol* 2012; 30: 17-33.

144.Novák J, Szekanecz Z, Sebesi J, Takáts A, Demeter P, Bene L, Sipka S, Csiki Z. Elevated levels of anti-Helicobacter pylori antibodies in Henoch-Schönlein purpura. *Autoimmunity* 2003; 36: 307-311.

145.Wang Q, Yu C, Sun Y. The association between asthma and Helicobacter pylori: a meta-analysis. *Helicobacter* 2013; 18: 41-53.

146.Zhou X, Wu J, Zhang G. Association between Helicobacter pylori and asthma: a meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; **25**: 460-468.

147.Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Gatta L, Geminiani A, et al. Review Artiche: invasive and non invasive tests for Helcobacter pylori infection. Aliment Pharmacol Ther 2000; 14:13-22.

148.Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Red- dy R, Osato MS, et al. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibi- tors. Am J Gastroenterol 2003; 98:1005-9.

149.Xu X, Li W, Qin L, Yang W, Yu G, Wei Q. Relationship betweenm Helicobacter pylori infection and obesity in Chinese adults: a systematic review with meta-analysis. PLoS One. 2019;14:e0221076.

150.Faigel DO, Childs M, Furth EE, Alavi A, Metz DC. New noninvasive tests for Helicobacter pylori gastritis. Compari- son with tissue-based gold standard. Dig Dis Sci 1996; 41:740-8.

151.Hahn M, Fennerty MB, Corless CL, Magaret N, Lieberman DA, Faigel DD. Noninvasive tests as a substitute for histo- logy in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Gastrointest Endosc 2000; 52:20-6.

152.Chey WD, Fendrik AM. Noninvasive Helicobacter pylori yesting for the “test-and-treat” strategy. A decision analysis to assess the effect of past infection on test choice. Arch Intern Med 2001; 161:2129-32.

153.Romano M, Cuomo A, Gravina AG, Miranda A et al. Empirical levofloxacin-containing versus clarithromycin-containing sequential therapy for Helicobacter pylori eradication: a rando- mised trial. Gut 2010;59:1465-470.

154.Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection: a systematic review. Helico- bacter 2004; 9:347-68.

155.Kato S, Nakayama K, Minoura T, Konno M, Tajiri H, Ma- tsuhisa T, et al. Japanese Pediatric Helicobacter study Group. Comparison between the 13C-urea breath test and stool antigen test for the diagnosis of childhood Helicobacter pylori infection. J Gastroenterol 2004; 39:1045-50.

156.Burucoa C, Delchier JC, Courillon-Mallet A, de Korwin JD, Mégraud F, Zerbib F i sur. Comparative evaluation of 29 commercial Helicobacter pylori serological kits. Helicobacter. 2013;18:169-79.

157.Bénéjat L, Ducournau A, Lehours P, Mégraud F. Real-time PCR for Helicobacter pylori diagnosis. The best tools available. Helicobacter. 2018;23:e12512.

158.Bazin T, Nchare Mfondi A, Julie C, Émile JF, Raymond J, Lamarque D. Contribution of genetic amplification by PCR for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in patients receiving proton pump inhibitors. United European Gastroenterol J. 2018;6:1267-73.

159.Saez J, Belda S, Santibáñez M, Rodríguez JC, Sola-Vera J, Galiana A i sur. Real-time PCR for diagnosing Helicobacter pylori infection in patients with upper gastrointestinal bleeding: comparison with other classical diagnostic methods. J Clin Microbiol. 2012;50:3233- 7.

160.Parihar V, Holleran G, Hall B, Brennan D, Crotty P, McNamara D. A combined antral and corpus rapid urease testing protocol can increase diagnostic accuracy despite a low

prevalence of Helicobacter pylori infection in patients undergoing routine gastroscopy. United European Gastroenterol J. 2015;3:432-6.

161.Matrakool L, Tongtawee T, Bartpho T, Dechsukhum C, Loyd RA, Kaewpitoon SJ i sur. Improved Detection of Helicobacter pylori Infection and Premalignant Gastric Mucosa Using Conventional White Light Source Gastroscopy. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17:2099-103.

162.Redéen S, Petersson F, Jönsson KA, Borch K. Relationship of gastroscopic features to histological findings in gastritis and Helicobacter pylori infection in a general population sample. Endoscopy. 2003;35:946-50.

163.Loffeld RJ. Diagnostic value of endoscopic signs of gastritis: with special emphasis to nodular antritis. Neth J Med. 1999;54:96-100.

164.Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Loyd RA, Matrakool L. Correlation between Gastric Mucosal Morphologic Patterns and Histopathological Severity of Helicobacter pylori Associated Gastritis Using Conventional Narrow Band Imaging Gastroscopy. Biomed Res Int. 2015;2015:808505.

165.Tahara T, Tahara S, Tuskamoto T, Horiguchi N, Yoshida D, Kawamura T i sur. Magnifying NBI Patterns of Gastric Mucosa After Helicobacter pylori Eradication and Its Potential Link to the Gastric Cancer Risk. Dig Dis Sci. 2017;62:2421-7.

166.Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. Am J Surg Pathol. 1996;20:1161-81.

167.Varbanova M, Wex T, Jechorek D, Röhl FW, Langner C, Selgrad M i sur. Impact of the angulus biopsy for the detection of gastric preneoplastic conditions and gastric cancer risk assessment. J Clin Pathol. 2016;69:19-25.

168.Calvet X, Sánchez-Delgado J, Montserrat A, Lario S, Ramírez-Lázaro MJ, Quesada M i sur. Accuracy of diagnostic tests for Helicobacter pylori: a reappraisal. Clin Infect Dis. 2009;48:1385-91.

169.Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in Helicobacter pylori. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 477–480.

170.Axon AT. The role of omeprazole and antibiotic combinations in the eradication of Helicobacter pylori – an update. Scand J Gastroenterol Suppl 1994; 205: 31–37.

171.Graham DY, Opekun AR and Klein PD. Clarithromycin for the eradication of Helicobacter pylori. J Clin Gastroenterol 1993; 16: 292–294.

172.Peterson WL, Graham DY, Marshall B, et al. Clarithromycin as monotherapy for eradication of Helicobacter pylori: a randomized, double-blind trial. Am J Gastroenterol 1993; 88: 1860–1864.

173.Graham DY, Ramirez F, Lew GM, et al. Omeprazole as an adjuvant to antimicrobial therapy for eradication of Helicobacter pylori infection. Curr Therapeut Res 1994; 55: 213–219.

174.Lamouliatte HC, Cayla R, Megraud F, et al. Amoxicillin-clarithromycin-omeprazole: the best therapy for Helicobacter pylori infection [Abstract]. Acta Gastroenterol Belg 1993; 56: A139.

175.Graham DY. Hp-normogram (normo-graham) for assessing the outcome of H. pylori therapy: effect of resistance, duration, and CYP2C19 genotype. Helicobacter 2015; 21: 85–90.

176.Nyssen OP, Bordin D, Tepes B, et al. European Registry on Helicobacter pylori management (Hp-EuReg): patterns and trends in first-line empirical eradication prescription and outcomes of 5 years and 21 533 patients. Gut 2021; 70: 40–54.

177.Valle Muñoz J, Muñoz Gómez P, Sierra Bernal C, et al. Tailored Helicobacter pylori eradication based on prior intake of macrolide antibiotics allows the use of triple therapy with optimal results in an area with high clarithromycin resistance. Rev Esp Enferm Dig 2019; 111: 655–661.

178.Boltin D, Levi Z, Gingold-Belfer R, et al. Impact of previous exposure to macrolide antibiotics on Helicobacter pylori infection treatment outcomes. Am J Gastroenterol 2019; 114: 900–906.

179.Muñoz-Gómez P, Jordán-Castro JA, Abanades- Tercero M, et al. Macrolide use in the previous years is associated with failure to eradicate Helicobacter pylori with clarithromycin- containing regimens. Helicobacter 2018; 23: e12452.

180.Lim SG, Park RW, Shin SJ, et al. The relationship between the failure to eradicate Helicobacter pylori and previous antibiotics use. Dig Liver Dis 2016; 48: 385–390.

181.Shiota S, Reddy R, Alsarraj A, et al. Antibiotic resistance of Helicobacter pylori among male United States veterans. Clin Gastroenterol Hepatol 2015; 13: 1616–1624.

182.Lehours P and Mégraud F. Helicobacter pylori molecular diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2011; 11: 351–355.

183.Rolon RM, Cunningham SA, Mandrekar JN,*et al*. Clinical evaluation of a real-time PCR assay for simultaneous detection of Helicobacter pylori and genotypic markers of clarithromycin resistance directly from stool. *J Clin Microbiol* 2021; 59: e03040-20.

184.Pichon M, Pichard B, Barrioz T, *et al*. Diagnostic accuracy of a noninvasive test for detection of Helicobacter pylori and resistance to clarithromycin in stool by the Amplidiag H. pylori+ClariR real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 2020; 58: e01787-19.

185.Van den Poel B, Gils S, Micalessi I, *et al*. Molecular detection of Helicobacter pylori and clarithromycin resistance in gastric biopsies:
a prospective evaluation of RIDA®GENE Helicobacter pylori assay. *Acta Clin Belg* 2021; 76: 177–183.

186.Cambau E, Allerheiligen V, Coulon C, *et al*. Evaluation of a new test, genotype HelicoDR, for molecular detection of antibiotic resistance in Helicobacter pylori. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3600–3607.

187.Egli K, Wagner K, Keller PM, *et al*. Comparison of the diagnostic performance of qPCR, Sanger sequencing, and whole-genome sequencing in determining clarithromycin and levofloxacin resistance in Helicobacter pylori. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 596371.

188.Liou JM, Malfertheiner P, Lee YC, et al. Screening and eradication of Helicobacter pylori for gastric cancer prevention: the Taipei global consensus. Gut 2020; 69: 2093–2112.

189.Shah SC, Iyer PG and Moss SF. AGA clinical practice update on the management of refractory Helicobacter pylori infection: expert review. Gastroenterology 2021; 160: 1831–1841.

190.Al-EidanFA,McElnayJC,ScottMG,etal. Management of Helicobacter pylori eradication– the influence of structured counselling and follow-up. Br J Clin Pharmacol 2002; 53: 163–171.

191.Suzuki S, Gotoda T, Kusano C, *et al*. Seven- day vonoprazan and low-dose amoxicillin dual therapy as first-line *Helicobacter pylori* treatment: a multicentre randomised trial in Japan. *Gut* 2020; 69: 1019–1026.

192.Blaschke TF, Osterberg L, Vrijens B, et al. Adherence to medications: insights arising from studies on the unreliable link between prescribed and actual drug dosing histories. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2012; 52: 275–301.

193.Osterberg L and Blaschke T. Adherence to medication. N Engl J Med 2005; 353: 487–497.

194.Graham DY, Dore MP and Lu H. Understanding treatment guidelines with bismuth and non-bismuth quadruple Helicobacter pylori eradication therapies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2018; 16: 679–687.

195.Matteo MJ, Perez CV, Domingo MR, *et al*. DNA sequence analysis of rdxA and frxA from paired metronidazole-sensitive and -resistant Helicobacter pylori isolates obtained from patients with heteroresistance. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 152–158.

196.Koksal AS, Onder FO, Torun S, *et al*. Twice a day quadruple therapy for the first-line treatment of Helicobacter pylori in an area with a high prevalence of background antibiotic resistance. *Acta Gastroenterol Belg* 2013; 76: 34–37.

197.Graham DY, Lu H and Shiotani A. Failure of optimized dual proton pump inhibitor amoxicillin therapy: what now? *Saudi J Gastroenterol* 2017; 23: 265–267

198.Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, *et al*. Different dosage regimens of rabeprazole for nocturnal gastric acid inhibition in relation to cytochrome P450 2C19 genotype status. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76: 290–301.

199.Sahara S, Sugimoto M, Uotani T, *et al*. Potent gastric acid inhibition over 24 hours by 4-times daily dosing of esomeprazole 20 mg. *Digestion* 2015; 91: 277–285.

200.Furuta T, Shirai N, Xiao F, *et al*. Effect of high- dose lansoprazole on intragastic pH in subjects who are homozygous extensive metabolizers of cytochrome P4502C19. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 484–492.

201.Dore MP, Bibbò S, Loria M, Salis R, Manca A, Pes GM, Graham DY. Twice-a-day IPP, tetracycline, metronidazole quadruple therapy with Pylera® or Lactobacillus reuteri for treatment naïve or for retreatment of Helicobacter pylori. Two randomized pilot studies. Helicobacter. 2019 Dec;24(6):e12659.

202.Tursi A, Franceschi M, Allegretta L, Savarino E, De Bastiani R, Elisei W, Baldassarre G, Ferronato A, Scida S, Miraglia C, Penna A, Licci C, Rizzo GL, Pranzo G, Cassieri C, Brandimarte G, Picchio M, Di Mario F. Effectiveness and Safety of Pylera® in Patients Infected by Helicobacter Pylori: A Multicenter, Retrospective, Real Life Study. Dig Dis. 2018;36(4):264-268.

203.Furuta T, Yamade M, Kagami T, *et al*. Influence of clarithromycin on the bactericidal effect of amoxicillin in patients infected with clarithromycin-resistant strains of *H. pylori. Gut* 2020; 69: 2056.

204.Gisbert JP. Rifabutin for the treatment of Helicobacter pylori infection: a review. *Pathogens* 2021; 10: 15.

205.Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori: A Systematic Review and Meta-analysis in World Health Organization Regions. Gastroenterology. 2018;155:1372-82.

206.Graham DY. Antibiotic resistance in Helicobacter pylori: implications for therapy. Gastroenterology 1998; 115: 1272–1277.

207.Scott D, Weeks D, Melchers K, et al. The life and death of Helicobacter pylori. Gut 1998; 43(Suppl. 1): S56–S60.

208.Liang X, Xu X, Zheng Q, et al. Efficacy of bismuth-containing quadruple therapies for clarithromycin-, metronidazole-, and fluoroquinolone-resistant Helicobacter pylori infections in a prospective study. Clin Gastroenterol Hepatol 2013; 11: 802–807.

209.Bang CS, Lim H, Jeong HM, Shin WG, Choi JH, Soh JS i sur. Amoxicillin or tetracycline in bismuth-containing quadruple therapy as first-line treatment for Helicobacter pylori infection. Gut Microbes. 2020;11:1314-23.

210.Liou JM, Fang YJ, Chen CC, Bair MJ, Chang CY, Lee YC i sur. Concomitant, bismuth quadruple, and 14-day triple therapy in the first-line treatment of Helicobacter pylori: a multicentre, open-label, randomised trial. Lancet. 2016;388:2355-65.

211.Kim SY, Chung JW. Best Helicobacter pylori Eradication Strategy in the Era of Antibiotic Resistance. Antibiotics (Basel). 2020;9:436.

212.Nyssen OP, Bordin D, Tepes B, Pérez-Aisa Á, Vaira D, Caldas M i sur. European Registry on Helicobacter pylori management (Hp-EuReg): patterns and trends in first-line empirical eradication prescription and outcomes of 5 years and 21 533 patients. Gut. 2021;70:40-54.

213.Miftahussurur M, Yamaoka Y. Appropriate first-line regimens to combat Helicobacter pylori antibiotic resistance: an Asian perspective. Molecules. 2015;20:6068-92.

214.Chen Q, Long X, Ji Y, et al. Randomised controlled trial: susceptibility-guided therapy versus empiric bismuth quadruple therapy for first-line Helicobacter pylori treatment. Aliment Pharmacol Ther 2019; 49: 1385–1394.

215.Fischbach L and Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for Helicobacter pylori. Aliment Pharmacol Ther 2007; 26: 343–357.

216.Fischbach LA, van ZS and Dickason J. Meta- analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to first-line anti-Helicobacter pylori quadruple therapies. Aliment Pharmacol Ther 2004; 20: 1071–1082.

217.Loffredo MR, Savini F, Bobone S, Casciaro B, Franzyk H, Mangoni ML, Stella L. Inoculum effect of antimicrobial peptides. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 May 25;118(21):e2014364118.

218.Bianco G, Iannaccone M, Boattini M, Cavallo R, Costa C. Assessment of rapid direct E-test on positive blood culture for same-day antimicrobial susceptibility. Braz J Microbiol. 2019 Oct;50(4):953-959.

219.Graham DY, Fagoonee S and Pellicano R. Increasing role for modified bismuth-containing quadruple therapies for Helicobacter pylori eradication. Minerva Gastroenterol Dietol 2017; 63: 77–79.

220.Dore MP, Lu H and Graham DY. Role of bismuth in improving Helicobacter pylori eradication with triple therapy. Gut 2016; 65: 870–878.

221.Chen Q, Zhang W, Fu Q, et al. Rescue therapy for Helicobacter pylori eradication: a randomized non-inferiority trial of amoxicillin or tetracycline in bismuth quadruple therapy. Am J Gastroenterol 2016; 111: 1736–1742.

222.Tsay F-W, Wu D-C, Yu H-C, et al. A randomized controlled trial shows that both 14-day hybrid and bismuth quadruple therapies cure most patients with Helicobacter pylori infection in populations with moderate antibiotic resistance. Antimicrob Agents Chemother 2017; 61: e00140-17.

223.Roghani HS, Massarrat S, Pahlewanzadeh MR, et al. Effect of two different doses of metronidazole and tetracycline in bismuth triple therapy on eradication of Helicobacter pylori and its resistant strains. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999; 11: 709–712.

224.Hsieh MT, Chang WL, Wu CT, et al. Optimizing the MIC breakpoints of amoxicillin and tetracycline for antibiotic selection in the rescue therapy of H. pylori with bismuth quadruple regimen. Eur J Clin Pharmacol 2020; 76: 1581– 1589.

225.Gisbert JP. "Rescue" regimens after Helicobacter pylori treatment failure. World J Gastroenterol. 2008;14:5385-402.

226.Hojo M, Miwa H, Nagahara A, Sato N. Pooled analysis on the efficacy of the second-line treatment regimens for Helicobacter pylori infection. Scand J Gastroenterol. 2001;36:690-700.

227.Marin AC, McNicholl AG, Gisbert JP. A review of rescue regimens after clarithromycin-containing triple therapy failure (for Helicobacter pylori eradication). Expert Opin Pharmacother. 2013;14:843-61.

228.Salazar CO, Cardenas VM, Reddy RK, et al. Greater than 95% success with 14-day bismuth quadruple anti-Helicobacter pylori therapy: a pilot study in US Hispanics. Helicobacter 2012; 17: 382–390.

229.Graham DY, Lew GM, Malaty HM et al. Factors influencing the eradication of Helicobacter pylori with triple therapy. Gastroenterology 1992; 102: 493–496.

230.Shmuely H, Topaz S, Berdinstein R, Yahav J, Melzer E. High Metronidazole and Clarithromycin Resistance of Helicobacter Pylori Isolated from Previously Treated and Naïve Patients. Isr Med Assoc J. 2020 Oct;22(10):628-632.

231.Zullo A, Vaira D, Vakil N, Hassan C, Gatta L, Ricci C i sur. High eradication rates of Helicobacter pylori with a new sequential treatment. Aliment Pharmacol Ther. 2003;17:719-26.

232.Zagari RM, Rabitti S, Eusebi LH, Bazzoli F. Treatment of Helicobacter pylori infection: A clinical practice update. Eur J Clin Invest. 2018;48.

233.Choi JH, Yang YJ, Bang CS, Lee JJ, Baik GH. Current Status of the Third-Line *Helicobacter pylori* Eradication. Gastroenterol Res Pract. 2018 May 2;2018:6523653.

234.Cianci R, Montalto M, Pandolfi F, Gasbarrini GB, Cammarota G. Third-line rescue therapy for Helicobacter pylori infection. World J Gastroenterol. 2006 Apr 21;12(15):2313-9.

235.Gisbert JP, Gisbert JL, Marcos S, Olivares D, Pajares JM. Helicobacter pylori first-line treatment and rescue options in patients allergic to penicillin. Aliment Pharmacol Ther. 2005;22:1041-6.

236.Luo L, Huang Y, Liang X, Ji Y, Yu L, Lu H. Susceptibility-guided therapy for Helicobacter pylori-infected penicillin-allergic patients: A prospective clinical trial of first-line and rescue therapies. Helicobacter. 2020 Aug;25(4):e12699.

237.Dutta AK, Phull PS. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in the presence of penicillin allergy. World J Gastroenterol. 2021 Nov 28;27(44):7661-7668.

238.Nyssen OP, Pérez-Aisa Á, Tepes B, Rodrigo-Sáez L, Romero PM, Lucendo A, Castro-Fernández M, Phull P, Barrio J, Bujanda L, Ortuño J, Areia M, Brglez Jurecic N, Huguet JM, Alcaide N, Voynovan I, María Botargues Bote J, Modolell I, Pérez Lasala J, Ariño I, Jonaitis L, Dominguez-Cajal M, Buzas G, Lerang F, Perona M, Bordin D, Axon T, Gasbarrini A, Marcos Pinto R, Niv Y, Kupcinskas L, Tonkic A, Leja M, Rokkas T, Boyanova L, Shvets O, Venerito M, Bytzer P, Goldis A, Simsek I, Lamy V, Przytulski K, Kunovský L, Capelle L, Milosavljevic T, Caldas M, Garre A, Mégraud F, O'Morain C, Gisbert JP; Hp-EuReg Investigators. Helicobacter pylori first-line and rescue treatments in patients allergic to penicillin: Experience from the European Registry on H pylori management (Hp-EuReg). Helicobacter. 2020 Jun;25(3):e12686.

239.Nguyen CT, Davis KA, Nisly SA, Li J. Treatment of Helicobacter pylori in Special Patient Populations. Pharmacotherapy. 2019 Oct;39(10):1012-1022.

10. ŽIVOTOPIS

NIKOLA PERKOVIĆ, dr.med.

Datum i mjesto rođenja:

15.07.1980., Split, Republika Hrvatska

Kućna adresa:

Mihanovićeva 31a, 21000 Split

Mobilni telefon:

091 377 55 77

E-mail:

n.perkovic@yahoo.com

OBRAZOVANJE:

1987-1995: osnovna škola

1995-1999: I klasična gimnazija u Splitu

1999-2005: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, prosjek ocjena 4,80

2005-2006: staž u KBC Split

2007: stručni državni ispit

2007-2008: specijalizacija iz interne medicine u KB Sveti Duh u Zagrebu

2009-2012: specijalizacija iz interne medicine u KBC Split

2014: program kliničke razmjene pri UZ Leuven, Belgija

2014: subspecijalizacija iz gastroenterologije

2015: edukacija iz gastroenterologije i hepatologije na Medizinische Hochschule Hannover, Njemačka

2016: edukacija na Barcelona Clinic

2016: upis poslijediplomskog studija "Medicina zasnovana na dokazima" pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu

AKADEMSKA ZVANJA:

2005: doktor medicine

2012: specijalist interne medicine

2016. subspecijalist gastroenterologije i hepatologije

NASTAVNA AKTIVNOST

2020. - danas asistent, Katedra za internu medicinu, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

NAGRADE I STIPENDIJE:

2000-2005: stipendija Grada Splita za nadarene studente

2001: Rektorova nagrada

2006: Dekanova nagrada

DRUGE AKTIVNOSTI:

2001: član organizacijskog odbora EMBO Lecture course

2008: 5. Hrvatski nefrološki kongres-aktivni sudionik

2014: godišnji sastanak HGD-aktivni sudionik

2021: godišnji sastanak HGD-aktivni sudionik

ČLANSTVA:

Hrvatska liječnička komora

HGD-Hrvatsko gastroenterološko društvo

Oesterreichische Gesellschaft fur Innere Medizin

RADOVI:

1. Janković N, Perković N. Ishod dugogodišnjeg liječenja peritonejskom dijalizom. Acta Med Croatica,2008,62 (supp I):17-20

2. Šimunić M, Fabijanić D, Perković N et al. Acute mesenteric ischemia due to superior mesenteic artery embolism in a patient with permanent atrial fibrillation. Signa vitae 5 (2010),1,40-43.

3. Šimunić M, Perković N et al. Colonoscopic polypectomies and recommendations on the colonoscopy follow up intervals depending on endoscopic and histopathological findings Acta Inform Med 2013;21(3):166-9.

4. Cambj–Sapunar, L., Maras–Šimunić, M., Piplović–Vuković, T., Šimunić, M., Ardalić, Ž., Tonkić, A. i Perković, N. (2013). Posttraumatic hepatic artery pseudoaneurysm presenting as gastrointestinal bleeding. Signa vitae, 9 (1), 1-3.

5. Božić-Ozretić D, Žaja I, Perković N. "Autoimmune Liver Diseases." Medicus, vol. 29, br. 1 Hepatologija danas, 2020, str. 73-73.

6. Klancnik M, Grgec M, Perković N, Ivanišević P, Poljak NK. A Foreign Body (Toothbrush) in the Esophagus of a Patient with Hiatal Hernia. Case Rep Gastroenterol. 2017 Apr 10;11(1):184-189.

7. Pavicic Ivelja M, Ivic I, Dolic K, Mestrovic A, Perkovic N, Jankovic S. Evaluation of cerebrovascular reactivity in chronic hepatitis C patients using transcranial color Doppler.PLoS

One. 2019 Jun 11;14(6)
8. Mestrovic A, Perkovic N, Bozic J, Pavicic Ivelja M, Vukovic J, Kardum G i sur. Randomised clinical trial comparing concomitant and hybrid therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection. PLoS One. 2020;15:e0244500.
9. Perkovic N, Mestrovic A, Bozic J, Ivelja MP, Vukovic J, Kardum G i sur. Randomized Clinical Trial Comparing Concomitant and Tailored Therapy for Eradication of *Helicobacter pylori* Infection. J Pers Med. 2021;11:534.
10. Pavicic Ivelja M, Dolic K, Tandara L, Perkovic N, Mestrovic A, Ivic I. Blood markers of endothelial dysfunction and their correlation to cerebrovascular reactivity in patients with chronic hepatitis C infection. PeerJ. 2021;9:e10723.

JEZICI:

Engleski, njemački, talijanski

INFORMATIČKO OBRAZOVANJE:

2008: ECDL Start ispit