

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI



**GLYCYRRHETINIC ASIT, *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* VE
LACTOBACILLUS CASEI'NİN *HELICOBACTER PYLORI*'YE KARŞI *IN-VITRO*,
IN-VIVO ETKİNLİĞİ VE MOLEKÜLER MEKANİZMALARI**

DOKTORA TEZİ

Erhan TEK

Danışman

Prof. Dr. Nizami DURAN

HATAY-2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**GLYCYRRHETINIC ASIT, *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* VE
LACTOBACILLUS CASEI'NİN *HELICOBACTER PYLORI*'YE KARŞI *IN-VITRO*,
IN-VIVO ETKİNLİĞİ VE MOLEKÜLER MEKANİZMALARI**

DOKTORA TEZİ

Erhan TEK

Danışman

Prof. Dr. Nizami DURAN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
20.D.011 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**GLYCYRRHETINIC ASIT, *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* VE
LACTOBACILLUS CASEI'NİN *HELICOBACTER PYLORI*'YE KARŞI *IN-VITRO*,
IN-VIVO ETKİNLİĞİ VE MOLEKÜLER MEKANİZMALARI**

Doktora Tezi
Erhan TEK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 15/03/2022 günü sözlü olarak
yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı : Prof. Dr. Nizami DURAN
Üye : Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Üye : Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL
Üye : Prof. Dr. Burçin ÖZER
Üye : Prof. Dr. Özlem Makbule KAYA

Bu tez, Enstitümüz (Tıp) Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

.../.../...
Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında ilgisini, anlayışını, desteğini ve tecrübelerini esirgemeyen ve benim üzerimde çok büyük emekleri olan değerli danışman hocam Prof.Dr. Nizami DURAN’a,

Eğitimim süresince ve tez çalışmalarımda bilgi ve deneyimleri ile her zaman desteklerini gördüğüm değerli hocalarım, Prof. Dr. Burçin ÖZER ve Prof. Dr. Özlem Makbule KAYA’ya

Hayvan deneyleri ve Histo-Patolojik analizlere olan katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Tuncer KUTLU’ya

Öğrenimim boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Doç. Dr. Hüseyin Özkan, Dr. Öğr. Üyesi Ufuk KAYA, Arş. Gör. İshak GÖKÇEK, Emrah AY ve Funda Çimen AÇIKGÜL’e

Bugünlere gelmemi sağlayan aileme ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Nisa Melis TEK’e

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
ÖZET	XIII
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. <i>Helicobacter pylori</i>	5
2.1.1. Patogenez ve Virülans Özellikleri	6
2.1.2. Epidemiyoloji.....	7
2.1.3. Bulaş Kaynakları.....	8
2.1.4. Klinik Tablolar.....	8
2.1.4.1. Peptik Ülser.....	8
2.1.4.2. Dispepsi	9
2.1.4.3. Mide Kanseri.....	9
2.1.5. Tedavi	10
2.1.5.1. Birinci Basamak Tedavi.....	10
2.1.5.2. İkinci Basamak Tedavi	11
2.1.5.3. Üçüncü Basamak Tedavi	12
2.1.6. Antibiyotik Direnci	12
2.1.6.1. Klaritromisin Direnci	14
2.1.6.2. Metronidazol Direnci	15
2.1.6.3. Amoksisilin direnci.....	16
2.1.6.4. Tetrasiklin direnci	17
2.1.6.5. Levofloksasin direnci.....	18
2.1.6.6. Rifampisin direnci.....	19

2.1.6.7. Furazolidon direnci	19
2.2. Yeni Tedavi Yaklaşımları	19
2.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	21
2.2.2. <i>Lactobacillus casei</i>	22
2.2.3. Glycyrrhetic asit.....	24
2.3. Nükleer Faktör Kappa β	25
2.4. Tümör Nekrozis Faktör α	28
2.5. Interleukin 1 β	29
2.6. Siklooksijenaz 2.....	30
2.7. Forkhead BOX M1	32
2.8. Interleukin 6.....	33
2.9. Interleukin 8.....	33
2.10. Interleukin 10.....	35
2.11. Interleukin 33.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Araç ve Gereçler	38
3.2. Kimyasal maddeler ve Suşlar	39
3.3. <i>Helicobacter pylori</i> Kültürü.....	39
3.4. Solüsyon ve Bileşiklerinin Hazırlanması.....	40
3.4.1. RPMI-1640 Besiyeri	40
3.4.2. Tripsin Solüsyonunun Hazırlanması.....	41
3.4.3. PBS hazırlanması.....	41
3.4.4. Biyoaktif Metabolitler.....	41
3.4.5. Glycyrrhetic Asit	41
3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	42
3.5.1. Sitotoksite Testleri	42
3.5.2. Tripan Mavisi ile Hücre Canlılığının Belirlenmesi	43
3.5.3. MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Yöntemi	44
3.5.4. AGS Hücre Hattının <i>H. pylori</i> ile Enfekte Edilmesi ve Deney Gruplarının Oluşturulması.....	44
3.6. Gen Ekspresyon Çalışmaları.....	45

3.6.1. RNA izolasyonu.....	45
3.6.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi	46
3.6.3. İnflamatuvar Sitokin Genlerinin Ekspresyon Seviyelerinin qPCR ile Belirlenmesi	46
3.7. Hayvan Deneyleri	47
3.7.1. Mikrobiyolojik Analizler	48
3.7.2. Histo-Patolojik Analizler	49
3.8. İstatistik Analizler	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. DMSO'nun Sitotoksik Konsantrasyonunun Belirlenmesi	50
4.2. Gen Ekspresyon Analizi Sonuçları	53
4.3. Hayvan Deneyleri ve Histo-Patolojik Sonuçlar	76
5. TARTIŞMA	90
6. SONUÇ	102
7. KAYNAKLAR	105
ÖZGEÇMİŞ	116

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3. 1.	%5 Koyun Kanlı Agarda <i>H. pylori</i> kolonileri.	40
Şekil 4. 1.	Vero hücreleri. A. 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde DMSO bulunmayan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü. B: içerisinde $\leq$ %2 DMSO bulunan hücre kültürünün morfolojik görünümü (10×).....	50
Şekil 4. 2.	Vero hücre hattında Glycyrrhetic asitin farklı konsantrasyonlarda hücre morfolojileri üzerinde meydana getirdiği sitopatolojik değişiklikler.....	51
Şekil 4. 3.	Vero hücre hattında <i>S. thermophilus</i> biyoaktif metabolitlerinin farklı konsantrasyonlarda hücre morfolojileri üzerinde meydana getirdiği sitopatolojik değişiklikler.....	52
Şekil 4. 4.	AGS hücre hattından izole edilen RNA'ların elektroforezde görüntüleri.	53
Şekil 4. 5.	GAPDH geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.	53
Şekil 4. 6.	COX-2 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği..	54
Şekil 4. 7.	<i>NF-κB</i> geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği...	54
Şekil 4. 8.	TNF- α geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği...	55
Şekil 4. 9.	İL-1B geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.....	55
Şekil 4.10.	İL-6 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.....	56
Şekil 4.11.	İL-8 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.....	56
Şekil 4.12.	İL-10 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.....	57
Şekil 4.13.	İL-33 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.....	57
Şekil 4.14.	Fox-M1 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği..	57
Şekil 4.15.	G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda COX-2 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.	58

Şekil 4.16. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda COX-2 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.	59
Şekil 4.17. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda <i>Nf-kB-1</i> sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	60
Şekil 4.18. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda <i>Nf-kB-1</i> sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.	61
Şekil 4.19. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda TNF-alfa sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	62
Şekil 4.20. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> nfeksiyonunda TNF-alfa sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.	63
Şekil 4. 21 G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-1B sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	64
Şekil 4.22. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-1B sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.	65
Şekil 4.23. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-6 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	66
Şekil 4.24. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-6 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	67
Şekil 4.25. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-8 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	68

Şekil 4.26. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-8 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.....	69
Şekil 4.27. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-10 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	70
Şekil 4.28. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-10 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	71
Şekil 4.29. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-33 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	72
Şekil 4.30. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda IL-33 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	73
Şekil 4.31. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda Fox-M1 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	74
Şekil 4.32. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde <i>H. pylori</i> enfeksiyonunda Fox-M1 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması	75
Şekil 4.33. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin <i>H. pylori</i> ile enfekte sıçanlarda tedavi sonunda izolasyon oranlarının kontrol grubuyla kıyaslanması.	77
Şekil 4.34. G. asit, <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. casei</i> 'nin farklı kombinasyonlarının <i>H. pylori</i> ile enfekte sıçanlarda tedavi sonunda izolasyon oranlarının kontrol grubuyla kıyaslanması.	78
Şekil 4.35. <i>S. thermophilus</i> tedavi grubu: Submukozada hafif derecede ödem, H×E..	79
Şekil 4.36. Glycyrrhetic asit tedavi grubu: Submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E..	79

Şekil 4.37. <i>Lactobacillus casei</i> tedavi grubu: Submukozada hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	80
Şekil 4.38. Antibiyotik tedavi grubu, Hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	81
Şekil 4.39. <i>S. thermophilus</i> artı Glycyrrhetic asit tedavi grubu, Normal histolojik görünümde, H×E	81
Şekil 4.40. <i>S. thermophilus</i> artı <i>L. casei</i> tedavi grubu: Mukoza ve submukozada hafif derecede eozinofil lökosit infiltrasyonu, H×E	82
Şekil 4.41. G. asit artı <i>L. casei</i> tedavi grubu: Submukozada hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	83
Şekil 4.42. G. asit artı Antibiyotik tedavi grubu, Hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	83
Şekil 4.43. <i>S. thermophilus</i> artı <i>L. casei</i> artı Antibiyotik tedavi grubu: Mukoza ve submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	84
Şekil 4.44. <i>S. thermophilus</i> artı G. asit artı <i>L. casei</i> tedavi grubu: Mukoza ve submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	85
Şekil 4.45. G. asit artı <i>L. casei</i> artı <i>S. thermophilus</i> artı Antibiyotik tedavi grubu: Mukoza ve submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	85
Şekil 4.46. Mukoza ve submukozada hafif derecede eozinofil lökosit infiltrasyonu ve şiddetli lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E	86
Şekil 4.47. <i>H. pylori</i> kolonizasyonu, Enfeksiyon kontrol grubu, H×E	88
Şekil 4.48. Negatif kontrol grubu, H×E	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Sitotoksite çalışmaları deney grupları ve tekrar sayıları	43
Çizelge 3. 2. Gen ekspresyon çalışması deney grupları ve tekrar sayıları	45
Çizelge 3. 3. Çalışmada kullanılan oligonükleotid dizileri	47
Çizelge 3. 4. Hayvan deneyi tedavi grupları ve sayıları	48



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece santigrad
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACG	: American College of Gastroenterology
CagA	: Sitotoksin İlişkili Gen A
DMSO	: Dimethylsulfoxide
FBS	: Fetal Dana Serum
FD	: Fonksiyonel Dispepsi
G. asit	: Glycyrrhetic Asit
IL	: Interleukin
MTT	: 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
<i>NF-κB</i>	: Nükleer faktör κB
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PUD	: Peptik Ülser Hastalığı
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
VacA	: Vakuolize Edici Toksin A
WHO	: World Health Organisation

ÖZET

Glycyrrhetic Asit, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus casei*'nin *Helicobacter pylori*'ye Karşı *In-vitro*, *In-vivo* Etkinliği ve Moleküler Mekanizmaları

Giriş & Amaç: *H. pylori* insanlarda gastrit, doudenal ülser ve gastrik kanserle ilişkilendirilen dünya nüfusunun yaklaşık yarısından fazlasında bulunan bir patojendir. Biz bu çalışmada *H. pylori*'ye karşı G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin biyokomponentlerinin AGS hücre hattında ve deneysel olarak oluşturulmuş sıçan gastrit modelinde etkinliklerinin araştırılmasını amaçladık.

Yöntem: Bileşiklerin anti-*H. pylori* etkinliği, hastalığın progresyonunda önemli etkinlikleri olduğu bilinen NF- κ B, IL-1B, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , COX-2, FOX-M1 ve IL-33 genlerinin ekspresyonları seviyeleri RT-PCR yöntemiyle belirlenerek araştırıldı. Ayrıca *H. pylori* ile deneysel olarak oluşturulmuş sıçan gastrit modelinde bileşiklerin ve farklı kombinasyonlarının etkinliği standart tedavi grubuyla kıyaslı olarak mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak da değerlendirildi.

Bulgular: Deneylerde *S. thermophilus* tedavi grubunda NF- κ B, TNF- α , COX-2 ve IL-1B, IL-6, IL-33, FOX-M1 ve IL-8 gen ekspresyonları anlamlı derecede azaldığı, IL-10 ekspresyonunun ise anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Gen ekspresyonları üzerindeki bu etkinliklerin *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik ve *S. thermophilus* artı G.asit artı antibiyotik tedavi grupları ile *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik dörtlü kombine tedavi gruplarında güçlü sinerjistik etkilerle ortaya çıktığı saptanmıştır. *S. thermophilus* tedavi grubunda hayvanlarda *H. pylori* eradikasyonu *S. thermophilus* tedavi grubunda tam olarak sağlanırken, G. asit grubunda eradikasyon oranı %60, ve *L. casei* ve antibiyotik tedavi grubunda ise %80 idi. *S. thermophilus* tedavi grubunda ödem ve lökosit infiltrasyonu görülmezken, diğer gruplarda lenfosit ve lökosit infiltrasyonu ile hafif ödem varlığı da tespit edildi. Üçlü kombine tedavi gruplarında anti-*H. pylori* etkinliği ikili kombine tedavi gruplarında bakteri eradikasyonu açısından daha etkili idi. Üçlü kombine tedavi uygulanan iki grupta da (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik ve *S. thermophilus* artı G. asit artı antibiyotik tedavi grupları) hayvanların mide dokularında *H. pylori*'ye rastlanmazken, her ki grupta da orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu ile hafif ödem ve düşük lökosit infiltrasyonu tespit edildi. *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik kombinasyonundan oluşan dörtlü tedavi grubunda ise *H. pylori* eradikasyonunun tam olduğu, mide dokusunda lökosit infiltrasyonuna ve ödeme rastlanmadığı, sadece hafif lenfosit infiltrasyonunun olduğu tespit edildi.

Sonuç: *S.thermophilus* tedavi grubunda birçok yangısal sitokinin gen ekspresyon düzeylerinde azalma tespit edilirken dörtlü kombinasyon grubunda önemli sinerjistik etkiler belirlenmiştir. Ayrıca *S.thermophilus* tedavi grubu ile dörtlü tedavi grubunda gerek *H.pylori* eradikasyonunun ve gerekse de histolojik açıdan doku iyileşmesinin tam olması sebebiyle hem yeni tedavi yaklaşımlarının oluşturulmasında hem de mevcut terapötik yöntemlerin iyileştirilmesi açısından oldukça önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: *H. pylori*, AGS hücre hattı, Glycyrrhetic asit, sekonder biyoaktif metabolit, gen ekspresyonu.



ABSTRACT

In-vitro, In-vivo Activity and Molecular Mechanisms of Glycyrrhetic Acid, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei* against *Helicobacter pylori*

Introduction & Aim: *H. pylori* is a pathogen associated with gastritis, duodenal ulcer and gastric cancer in humans and is present in more than half of the world's population. In this study, we aimed to investigate the efficacy of G. acid, *S. thermophilus* and *L. casei* biocomponents against *H.pylori* in AGS cell line and rat gastritis model.

Method: The anti-*H. pylori* activity of the compounds was determined by PCR and the expressions of *NF-κB*, IL-1B, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, COX-2, FOX-M1 and IL-33 genes. These genes have important activities in the progression of the disease. In addition, the treatment success of these compounds and their different combinations in the rat gastritis model experimentally induced with *H. pylori* was also evaluated microbiologically and histopathologically compared to the standard antibiotic treatment group.

Results: The levels of NF-κB, TNF-α, COX-2 and IL-1B, IL-6, IL-33, FOX-M1 and IL-8 gene expressions were significantly decreased in the *S. thermophilus* treatment group, the level of IL-10 expression increased significantly. These activities on gene expressions appeared with strong synergistic effects in the *S. thermophilus* plus *L. casei* plus antibiotic and *S. thermophilus* plus G. acid plus antibiotic treatment groups and the *S. thermophilus* plus *L. casei* plus G. acid plus antibiotic quadruple combined treatment groups. While *H. pylori* eradication was completely achieved in the *S. thermophilus* treatment group, the eradication rate was 60% in the G. acid group and 80% in the *L. casei* and antibiotic treatment group. No edema and leukocyte infiltration were detected in the *S. thermophilus* treatment group, whereas other groups had mild edema with lymphocyte and leukocyte infiltration. Anti-*H. pylori* efficacy in triple combined treatment groups was more effective when evaluated in terms of bacterial eradication than in dual combined treatment groups. *H. pylori* was not detected in the gastric tissues of animals in both groups treated with triple combined therapy (the *S. thermophilus* plus *L. casei* plus antibiotic and *S. thermophilus* plus G. acid plus antibiotic treatment groups), whereas both groups had mild edema with moderate lymphocyte infiltration and low leukocyte infiltration. In the quadruple treatment group consisting of the combination of *S. thermophilus* plus *L. casei* plus G. acid plus antibiotic, *H. pylori* eradication was complete, there was no leukocyte infiltration and edema in the stomach tissue, only mild lymphocyte infiltration.

Conclusion: While gene expression levels of many inflammatory cytokines were decreased in the *S. thermophilus* treatment group, significant synergistic effects were also detected in the quadruple combination group. In addition, we think that it may be very important in

terms of both the creation of new treatment approaches and the improvement of existing therapeutic methods, since both the eradication of *H. pylori* and the complete healing of the tissue in terms of histology in the *S. thermophilus* treatment group and the quadruple treatment group.

Keywords: *H. pylori*, AGS cell line, Glycyrrhetic acid, secondary bioactive metabolite, gene expression.



1. GİRİŞ

Helicobacter pylori dünya nüfusunun yarısından fazlasının enfekte olduğu Gram negatif spiral şekilli, mikroaerofilik bir bakteridir. *H. pylori* enfeksiyonu tedavi edilmediğinde enfekte kişide hayat boyu kolonize olarak kalabilmektedir. Bakteri kronik enfeksiyonun devamlılığını sağlamak için düşük mide asidinin zararlı etkisinden uzakta mukoza tabakasında ve üzerindeki mukusta kolonize olur. Düşük pH'lı mide asidinin yıkıcı etkisinden geçici olarak konak kaynaklı üreyi amonyak ve karbondioksit parçalayarak korunabilmektedir. Bakterinin spiral şekli ve lofotrik flagellaları kalın mukus tabakası içerisinde hareket etmesine imkan sağlarken pH ve üre güdümlü kemotaksis sistemi de mide asidinin zararlı etkisinden uzaklaşmasını sağlamaktadır (Sachs ve ark. 2005). *H. pylori* mide duvarında bulunan protein ve glikan tabanlı reseptörlere majör adhezinleri olan spesifik dış membran proteinleri (HOPs) aracılığı ile bağlanarak epitel hücrelerle yakın etkileşimini koruyabilir. HOP adhezinlerinin ekspresyonu, rekombinasyon ve faz varyasyonu ile kontrol edilir, enfeksiyon sırasında dinamik aderans profilleri oluşturur ve muhtemelen bakterinin enfeksiyon bölgesindeki değişen koşullara cevap vermesine izin verir (Salaün ve ark. 2004). Epitelyal adhezyon bölgelerinde, bakteri cagA (sitotoksin ilişkili antijen A) ve vacA (Vakuolize edici toksin A) toksinleri gibi virülans faktörlerinin etkisi ile doku fizyolojisini ve morfolojisini değiştirerek enfeksiyonun patolojisini kötüleştirmektedir (Posselt ve ark. 2013). Enfekte hastalarda aktif kronik gastrit, duodenal ülser ve gastrik ülser gözlenmektedir. Ayrıca *H. pylori* ile gastrik kanser ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Mide kanseri, akciğer ve karaciğer kanserlerinden sonra dünya çapında kanser ölümlerinin üçüncü önde gelen nedenidir (Ferlay ve ark. 2012). Hem düşük hem de yüksek riskli popülasyonlarda, beslenme düzenleri, obezite, sigara ve özellikle *H. pylori* ile kronik enfeksiyonlar, kalıtsal faktörlere ek olarak mide kanseri gelişimine katkı yapmaktadır (Plummer ve ark. 2015).

Bu hastalıkların tedavisi için *H. pylori*'nin eradikasyonu hayati öneme sahiptir (Tonkic ve ark. 2012). Bu amaçla geleneksel tedavi yöntemi klaritromisin, amoksisilin, tetrasiklin ve metronidazolün proton pompası inhibitörleri ve bizmut sülfat ile kombine kullanımına dayanmaktadır. Özellikle metronidazol ve klaritromisine karşı gelişen antibiyotik direnci tedaviyi zorlaştırmaktadır. Tedavideki problemlerden dolayı

levofloksasin, rifabutin ve furazolidon alternatif seçenekler olarak kullanılmaktadır. Fakat kinolon direncinin gelişimi ve yan etkilerinden dolayı rifabutin ve furazolidone'un *H. pylori* enfeksiyonlarındaki kullanımı ve etkinliği kısıtlıdır (Wroblewski ve ark. 2016). Tedavideki tüm bu olumsuzluklar yeni aktif molekül arayışlarını veya mevcut ilaçların etkinliklerinin artırılması yollarına başvurmayı gerektirmektedir.

Yeni ilaç araştırmalarının çoğu sitotoksik etkilerinin düşük olması sebebiyle doğal ürünler üzerinde yoğunlaşmıştır. Mide rahatsızlıklarında da uzun yıllardan beri çeşitli bitkilerden elde edilen doğal ürünler halk tıbbında yüzyıllardır kullanılmıştır. Halk arasında mide hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bitkilerden biri meyan kökü bitkisi. Meyan kökü bitkisinin çok çeşitli farmakolojik etkinlikleri olduğu bildirilmiştir. Meyan kökü, *Glycyrrhiza glabra* isimli bitkinin köküdür. Meyan kökünün aktif bileşeni glycyrrhizin'dir. (*Glycyrrhizic acid*, glycyrrhizinate). Glycyrrhetic asit, meyan kökünün bir bileşeni olan *Glycyrrhizic acid*'in hidrolitik bir ürünüdür. Meyan olarakta adlandırılan *Glycyrrhiza glabra*'nın antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antiülser, antiallerjik, antioksidan, antitümöral etkinliklerinin olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Li ve ark. 2017). Ayrıca önceki çalışmalarımızda Glycyrrhetic asitin *in-vitro* koşullarda *H. pylori*'ye karşı oldukça önemli antimikrobiyal etkinlik sergilediği tespit edilmiştir (Çelik ve Duran 2019).

Antimikrobiyal etkinliklerinden dolayı son yıllarda yoğun araştırmaların yapıldığı diğer bir alan mikrobiyal sekonder biyokomponentlerdir. Probiyotik mikroorganizmalar çok çeşitli farmakolojik etkinliklerinden dolayı ilgi odağı haline gelmiş çok çeşitli çalışmalarda yaygın olarak araştırılmaktadır. Streptokoklar, Laktobasiller, Enterokoklar gibi çok çeşitli probiyotik mikroorganizmanın antimikrobiyal etkinlikleri immun regülatör fonksiyonları çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus casei* birçok fermente gıdada bulunan insan sağlığı açısından gerek salgı ve enzimleriyle gerekse de biyoaktif komponentleriyle son derece faydalı mikroorganizmalardır. *S. thermophilus* kısa zincirler halinde üreyen, optimal üreme ısısı 42 °C olan, termofilik Gram pozitif bir koktur (Facklam 2002). Özellikle gıda endüstrisinde yoğurt ve peynir üretiminde kullanılan mikroorganizmadır. Son yıllarda mikrobiyotik ilişkili çalışmaların artması ile birlikte probiyotik olarak kullanımı gündeme gelmiş, çalışmalarda insan gastrointestinal sisteminde *S. thermophilus*'un yaşayabildiği de gösterilmiştir. *S. thermophilus*'un yoğun asetik asit salisilik

asit kullanımına bağılı olarak şekillenene kronik gastrit olgularında tedavi edici özelliğinin olduğu bildirilmiştir. Bakteri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin immun sistemi stimule ederek konaktaki ülser oluşumu üzerine inhibitör bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca viral ve bakteriyel kaynaklı diyare olguları ve antibiyotik kullanımına bağılı diarre olgularında etkinliğı tespit edilmiştir. *S. thermophilus*'un biyoaktif metabolitlerinin birçok bakteriye karşı antibakteriyel etkinliğı, antioksidan aktivitesi, immunmodulator özellikleri gastrointestinal sistem bariyerine olan olumlu etkileri belirlenmiştir (Rodríguez ve ark. 2010).

Lactobacillus casei ise Gram pozitif, asidotoleran bir çomak şekilli bir bakteridir. Gıda endüstrisi, biyoteknoloji ve ilaç sanayisinde probiyotik, starter kültür ve aşı suşu olarak da çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Salvetti ve ark. 2012). *L. casei* suşlarının sindirim sisteminden geçerken hayatta kalma ve bağırsakta kolonize olma yeteneğı mikroorganizmanın etkilerini artırıcı özelliklerindendir. Bakterinin sekonder biyoaktif komponentlerinin de sağılık üzerinde çok çeşitli olumlu etkilerinin olduğu çalışmalarda bildirilmiştir. Bir çalışmada bir fare kolit modelinde ısıyla inaktive edilmiş *L. casei* suşu kullanılmış hem inaktif hem de canlı suşların inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) modeli üzerinde terapötik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Thakur ve ark. 2016). Yapılan çalışmalarda Laktobasillerin *H. pylori*'ye karşı önemli etkinliklerinin olduğu bildirilmiştir. Bu grup mikroorganizmalardan *L. paracasei*'nin *H. pylori* tedavisinde yardımcı tedavi olarak kullanımı ve bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu dahil olmak üzere çeşitli etkileri tespit edilmiştir. *L. paracasei* tarafından salgılanan Ekzopolisakkaritlerin (EPS) tedavide olumlu katkılarının olabileceğı bildirilmiştir (Balzaretti ve ark. 2017).

Bu çalışmada *H. pylori*'ye karşı Glycyrrhetic asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin biyoaktif metabolitlerinin non-sitotoksik konsantrasyonlarda tekli ve kombine kullanımlarının insan mide adenokarsinoma hücre hattında (AGS Cell Line) *in-vitro* ve deneysel olarak oluşturulmuş sıçan gastrit modelinde *in-vivo* olarak etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada bileşiklerin etkinlikleri standart antibiyotik tedavi yöntemiyle (amoksisisin klavulanik asit artı klaritromisin) karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerin anti-*H. pylori* etkinliğı, hastalığın progresyonunda önemli etkinlikleri olduğu bilinen Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB), İnterleukin (IL)-1B, İnterleukin (IL)-6, İnterleukin (IL)-8, İnterleukin (IL)-10, İnterleukin (IL)-33, Tümör

Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α), Siklooksijenaz 2 (COX-2) ve Forkhead Box M1 (FOX-M1) genlerinin ekspresyon seviyeleri Real-Time Polimerase Chain Reaction (PCR) yöntemiyle belirlenerek değerlendirilmiştir. Ayrıca *H. pylori* ile deneysel olarak oluşturulmuş sıçan gastrit modelinde bileşiklerin ve farklı kombinasyonlarının tedavi başarısı standart tedavi grubuyla kıyaslı olarak histopatolojik olarak da değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Helicobacter pylori*

H. pylori dünya nüfusunun yarısından fazlasını etkileyen en yaygın bakteriyel patojenlerden biridir (Mitchell 1999). Bu bakteri ilk olarak *Campylobacter* cinsinin bir üyesi olarak tanımlanmış, ancak taksonomideki farklılıklar nedeniyle 1989'da *Helicobacter* cinsinin bir üyesi olarak sınıflandırılmıştır (Goodwin ve ark. 1989).

Yaygın prevalansına rağmen mikroorganizmanın klinik belirtileri vakaların az bir kısmında gelişmektedir. *H. pylori* özellikle non-steroid antiinflatuar ilaç kullanımıyla ilişkili mide ve duodenum ülserlerinin en yaygın nedenidir. *H. pylori* ile enfekte olan kişiler hayatları boyunca %10-20 ihtimalle peptik ülser hastalığına (PUD) ve %1-2 ihtimalle de mide kanserine yakalanma riski ile karşı karşıyadırlar. Spesifik olarak CagA pozitif *H. pylori* suşları ile enfekte hastalarda bu iki hastalık riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Tedavi morbidite ve mortaliteyi büyük ölçüde azaltabildiğinden doğru tanı büyük öneme sahiptir. Örneğin, mide mukozası ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoması olan hastalarda *H. pylori*'nin eradikasyonunun lenfomada %60-80 nispetinde iyileşme/gerilemeye yol açtığı bildirilmiştir (Kusters ve ark. 2000).

H. pylori klinik önemi yüksek ancak tanımlanması oldukça yakın bir geçmişte gerçekleşen bir mikroorganizmadır (Warren ve Marshall 1983). Aslında bu bakterilerin varlığı mikrobiyolojinin gelişiminin başlangıcında mikroskopik gözlemin gerekli olduğu zamanlarda gözlenmiş, ancak kültürasyonunun zor olması sebebiyle kolay kültüre edilebilen mikroorganizmaların üzerinde yoğunlaşılması sebebiyle bu mikroorganizma ile ilgili çalışmaların geri planda kalmasına yol açmıştır. Uzun bir süre mide pH'sında hiçbir mikroorganizmanın üreyemeyeceği inancına bağlı olarak uzun bir dönem üzerinde durulmamıştır. Midede rastlanılan mikroorganizmaların geçici olarak bulunmayla alakalı olabileceğine inanılmıştır. Birçok bilim adamı midede bulunan mikroorganizmaların üst sindirim sisteminden gelen mikroorganizmalar olabileceğini bu asit ortamda yerleşik herhangi bir mikroorganizmanın olmayacağını bildirmişlerdir.

H. pylori'nin keşfi filocoğrafyası aracılığıyla insan göçlerinin değerlendirilmesine de imkan vermektedir. *H. pylori* ile ilgili paleomikrobiyoloji çalışmaları özellikle 5200 yıl

önce ölen buz adam Ötzi'nin keşfiyle aydınlatılmıştır (Maixner ve ark. 2016). Bakteri insanoğlu ile küresel bir yayılım göstermiştir. Mikroorganizma hem yeni hem de eski insan göçlerini daha iyi anlamak için kullanılabilecek farklı filocoğrafik modellerde kullanılabilmektedir (Achtman 2016). Başlangıcından beri insanlar bitkileri beslenme amacıyla ve tıbbi özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların tedavilerinde de kullanagelmişlerdir. Günümüzde ise dünyanın farklı coğrafyalarında yer alan birçok endemik tıbbi bitkinin çok çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı tedavide ve ilaç geliştirme sanayinde kullanıldığı bilinmektedir (Silva ve ark. 2016).

2.1.1. Patogenez ve Virülans Özellikleri

H. pylori üreaz, katalaz ve oksidaz aktivitesine sahip, hareketli, spiral, mikroaerofilik, Gram negatif bir bakteridir (Kusters ve ark. 2000). Bu özellikleri asidik mide ortamında yaşayabilmesi için hayati öneme sahiptir. Üreaz ürenin amonyağa dönüştürülmesine dolayısıyla mide asidini nötralize etmesine ve bakteriyel protein sentezini desteklemeye yardımcı olmaktadır. Sahip olduğu bir gen (urel geni) üreaz salgılanmasını tetikleyerek mide pH'sını regüle etmektedir (Weeks ve ark. 2000). Üreaz *H. pylori*'nin toplam protein içeriğinin %10 kadarını oluşturabilmektedir (Bauerfeind ve ark. 1997).

H. pylori enfeksiyonu oksijen metabolitlerini serbest bırakarak organizmayı öldürmeye çalışan fagositik hücrelerin yoğun salınımını tetiklemekte, ancak mikroorganizmanın katalaz aktivitesi *H. pylori*'nin bu oksidatif strese karşı hayatta kalmasını sağlamaktadır (Ramaraio ve ark. 2000).

Buna karşılık inflamatuvar yanıt gastrik epitel katmanına zarar vermekte ve *H. pylori*'nin çoğalmasına imkan yaratmaktadır. Ayrıca, bakterinin sahip olduğu flagellaları sayesinde mide mukozasında kolonizasyon gerçekleşmekte ve enfeksiyon oluşumu başlamaktadır. Genellikle gastrik korpusu etkileyen *H. pylori* enfeksiyonu pariyetal hücre hasarı ile ilişkilidir, mide antrumuna lokalize enfeksiyon gastrin üretiminde artışa yol açmakta duodenal ülserasyon meydana gelmektedir (Kusters ve ark. 2000).

H. pylori'nin önemli özelliği çok düşük mide pH'ına direnç yeteneğidir. Mikroorganizma flagellaları yardımıyla hareket ederek mide mukozasının yüzeyindeki

koruyucu mukus tabakasını aşmak için gereklidir. Demir homeostazını asit aklimasyonunu ve oksidatif yanıtı düzenleyen ferrik alım regülatörü Fur'un *H. pylori* kolonizasyonu için önemli olduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada Fur'un *H. pylori* suşu J99'da flagellar motor anahtarını pozitif olarak düzenlediği bildirilmiştir (Lee ve ark. 2017).

LuxS enzimi *H. pylori* motilitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Fur mutantında azaltılan otoindükleyici-2'nin (AI-2) üretimini katalize eder, böylece Fur'un AI-2 üretimi üzerindeki etkisiyle *H. pylori* hareketliliğini de kontrol ettiğini gösterir. Son zamanlarda motiliteyi modüle ettiği bildirilen bir başka *H. pylori* faktörü, Dsb benzeri bir protein olan HP0231'dir. HP0231 redoks homeostazına katılır ve mide kolonizasyonu için gereklidir. Yokluğu ayrıca tip IV sekresyon sistemini (T4SS) ve VacA fonksiyonlarını da bozmaktadır (Zhong ve ark. 2016).

2.1.2. Epidemiyoloji

Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon yaygın olarak çocukluk çağında edinilmekte ve kronik enfeksiyon yetişkinliğe kadar devam etmektedir. Gelişmiş ülkelerde enfeksiyon çocuklarda nadirken yetişkinlerde daha sık görülmektedir (Kusters ve ark. 2000).

H. pylori'ye erken maruz kalma, atrofik gastritten mide ülseri ve karsinomaya kadar ilerleyen gastrik patolojik değişikliklerle ilişkilidir. Geç başlangıçlı enfeksiyon en yaygın olarak duodenal patoloji ile ortaya çıkar. En yaygın bulaşma yolu fekal-oral ve oral-oral maruziyetler yoluyla kişiden kişiye bulaşmadır (Brown 2000).

Enfeksiyon prevalansı genellikle yaşla birlikte artmakta ve siyahiler ve Hispaniklerde beyazlara göre prevalans daha yüksek seyretmektedir. *H. pylori* seroprevalansı 30 yaşından küçük bireylerde yaklaşık %30, 55-65 yaş arası bireylerde %60'ın üzerinde bildirilmektedir. *H. pylori* prevalansı etnik gruplara göre değişebilmektedir. Beyazlarda, %26; siyahilerde, %53; ve Meksikalılarda %63 prevalans oranları bildirilmiştir. Bulaş için risk faktörleri arasında kalabalık ev yaşantısı ve yatak paylaşılması gibi kişiden kişiye yakın temasın yoğun olduğu yaşam koşullarının önemli olduğu bilinmektedir.

2.1.3. Bulaş Kaynakları

H. pylori peptik ülser ve gastrik kanser vakalarının çoğundan sorumlu ciddi ve yaygın bir enfeksiyon olmasına rağmen, enfeksiyonun bulaş kaynakları henüz tam olarak bilinmemektedir. Salgınlara mide entübasyonu iyatrojenik olarak neden olmaktadır. Ancak fekal-oral ya da oral-oral yolların hangisinin en olası bulaş yolu olduğu üzerine tartışma devam etmektedir. Yiyecek ve içme suları da önemli bulaş kaynaklarıdır.

Aile içi bulaş önemli olup özellikle anneden çocuğuna bulaş çok önemlidir. Bakterinin fekal-oral yol üzerinden etkili şekilde bulaşabileceği bildirilmektedir (Bui ve ark. 2016). Çalışmalarda *H. pylori* varlığının dış plağı, tükürük, dil, bademcik dokusu, kök kanalları ve ağız mukozasında bulunabildiği bildirilmiştir (Payão ve ark. 2016). Enfekte su yoluyla bulaş uzun zamandır bir endişe kaynağı olmuştur.

2.1.4. Klinik Tablolar

H. pylori enfeksiyonunun klinik görünümü konakçıya ve hastalığın kronikliğine bağlı olarak oldukça değişmektedir. *H. pylori* ile doğrudan veya dolaylı olan klinik formlar aşağıda verilmiştir.

2.1.4.1. Peptik Ülser

PUD en yaygın olarak *H. pylori* enfeksiyonu ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaç (NSAID) kullanımı ile ilişkilidir. Peptik ülserler sıklıkla karın ağrısına, mide bulantısına, kusmaya ve erken doymaya neden olsa da semptomlar spesifik olmayabilir. Bazı hastalar özellikle yaşlılar asemptomatik olabilmekte veya sadece hafif semptomlar gösterebilmektedir. En sık görülen komplikasyonlar arasında; kanama, gastrik obstrüksiyon ve perforasyon sayılabilir (Lanas ve Chan 2017).

Çalışmalar, *H. pylori* ve NSAID kullanımının PUD için bağımsız risk faktörleri olduğunu göstermektedir. NSAID tedavisi almamış olan hastalarda NSAID tedavisine başlamadan önce *H. pylori*'nin eradikasyonu, peptik ülser insidansını azalmaktadır. *H. pylori* tedavisinin kronik NSAID kullanıcılarında ülserin önlenmesine etkisinin düşük olduğu

bildirilmiştir (Chey ve ark. 2017). NSAID kullanılmaması durumunda PUD hastalarında *H. pylori* tedavisi tipik olarak ülserin iyileşmesini de desteklemektedir.

2.1.4.2.Dispepsi

Dispepsi American College of Gastroenterology (ACG) tarafından esas olarak epigastriumda bir aydan uzun süren ağrı veya rahatsızlık olarak tanımlanmaktadır (Chey ve ark. 2017, Moayyedi ve ark. 2017). İlişkili semptomlar arasında bulantı, erken doyma, epigastrik dolgunluk ve şişkinlik sayılabilir. Semptomlarını açıklayacak bir hastalığı olmayan (PUD veya gastrik malignite gibi) hastalarda fonksiyonel dispepsi (FD) olduğu kabul edilmektedir. Bu hastalar epigastrik ağrı sendromu (epigastrik ağrı ve/veya yanma) veya tokluk distres sendromu (yemeklerle ilgili erken doyma ve/veya tokluk) ile karakterize edilmektedir (Stanghellini ve ark. 2016).

Çalışmalarda *H. pylori*'nin dispeptik semptomların nedeni olabileceği bildirilmiştir. Dispepsili *H. pylori* varlığı tespit edilen 60 yaşın altındaki hastaların tedavi edilmesi önerilmektedir. Bu hastalar tedaviden 4 hafta sonra semptomatik iyileşme açısından yeniden değerlendirilmeli ve eradikasyonu doğrulamak için *H. pylori* varlığını gösteren test yinelenmelidir. Dispepsili hastalar *H. pylori* eradike edildikten sonra genellikle semptomatik olarak iyileşmektedirler (Moayyedi ve ark. 2017).

H. pylori enfeksiyonu tedavi edilmediği neredeyse her zaman kronik gastrite ilerlese de mide mukozal hasarının şiddeti gastrointestinal semptomlarla düşük de olsa ilişkilendirilmektedir (Malfertheiner ve ark. 2017).

2.1.4.3.Mide Kanseri

Mide kanseri dünya çapında kanser ölümlerinin üçüncü önde gelen nedenidir (Ferlay ve ark. 2013). WHO, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı ile işbirliği içinde, *H. pylori*'yi birinci grup kanserojen etkenler arasında sıralamış mide karsinogenezinden sorumlu olduğunu bildirmiştir. *H. pylori* enfeksiyonunun mide kanseri vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturan non kardiyak mide kanserlerinin %89'uyla ilişki olduğu bildirilmiştir (IARC 1994).

Özellikle, *H. pylori*'nin, kronik atrofik olmayan gastritten kronik atrofik gastrite, mide bağırsak metaplazisine ve displazi ve maligniteye ilerlemeye kadar non-kardiyak mide

kanserlerinin aşamalı gelişiminde temel etkenlerden biri olduğu düşünülmektedir (Gawron ve ark. 20).

Bir çalışmada gastro intestinal metaplazi'li veya metaplazisi bulunmayan bireylerde *H. pylori* eradikasyonunun plaseboya kıyasla mide kanseri riskinde %32'lik bir azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Gawron ve ark. 2020, Gupta ve ark. 2019).

Hastalar enfekte olmalarına rağmen asemptomatik olabileceğinden tanı genellikle erken konulamamaktadır. Mide kanserinin beş yıllık sağkalım oranlarının ~%31-32 olduğu bildirilmiştir (Noone ve ark. 2015).

H. pylori ile ektranodal non-Hodgkin lenfomanın en yaygın şekli olan gastrik MALT lenfoma arasında etiyolojik bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Parsonnet ve ark. 1994).

2.1.5. Tedavi

H. pylori enfeksiyonunun tedavisi son yıllarda büyük ölçüde değişmiştir. Özellikle artan antimikrobiyal direnç ve değişen epidemiyolojik durum nedeniyle bazı popülasyonlarda geçmişteki tedavi protokolleri geçersiz kalmıştır. *H. pylori* enfeksiyonunun prevalansı dünya genelinde çok büyük farklılıklar gösterdiğinden tüm popülasyonların ihtiyaçlarını karşılayan tek bir tedavi kılavuzu oluşturmak zordur. Son dönemlerde *H. pylori* tedavisine ilişkin üç yeni kılavuz yayınlanmıştır (Fallone ve ark. 2016, Malfertheiner ve ark. 2017, Chey WD ve ark. 2017, Bjorkman ve Steenblik 2017).

2.1.5.1. Birinci Basamak Tedavi

Üçlü klaritromisin tedavisi, bir proton pompası inhibitörü (PPI) ve iki antibiyotikten (klaritromisin ve amoksisilin (penisilin alerjisinde metranidazol veya tinidazol)) oluşan 14 gün boyunca kullanımı içeren bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi yalnızca klaritromisin direncinin yüksek olmadığı (<%15) bölgelerde önerilmektedir (Bjorkman ve Steenblik 2017, Zagari ve ark. 2018).

Makrolid grubu antibiyotiklerin önceden kullanılmasının klaritromisin içeren protokoller uygulandığında *H. pylori*'nin eradikasyonunu zorlaştırdığı bildirilmektedir. Bu

nedenle hasta daha önce makrolid kullanmışsa klaritromisin üçlü tedavisinin uygulanmasının kontrendike olduğu bildirilmiştir (Munoz-Gomez ve 2018).

Bizmut bulunmayan dörtlü tedavi, bir PPI ve üç antibiyotik, klaritromisin, amoksisilin ve metronidazol veya tinidazol içermektedir. Sıralı tedavide üç antibiyotik sırayla verilirken eşzamanlı tedavide üç antibiyotik birlikte kombine olarak verilmektedir. Günümüzde sıralı tedavi uygulaması uluslararası klavuzlardan çıkarılmıştır (Zagari ve ark. 2018).

Bizmut dörtlü tedavisinde bir PPI, bizmut tuzları, tetrasiklin ve metronidazol 14 gün boyunca kullanılmaktadır. Önceleri bu tedavi rejimi ikinci basamak tedavi olarak önerilmekteydi. Ancak klaritromisin direncinden etkilenmediği için yüksek dirençli bölgelerde tedavi seçenekleri arasında belirgin bir avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle klaritromisine yüksek direnç gösteren bölgelerde ve daha önce antibiyotik tedavisi öyküsü olan kişilerde bizmut dörtlü tedavisi ve eş zamanlı tedavi birinci basamak ampirik tedaviler olarak önerilmektedir. Klaritromisin direncinin düşük olduğu bölgelerde ise bu tedavi yerine 14 günlük klaritromisin üçlü tedavisi kullanılabilmektedir (Bjorkman ve Steenblik 2017, Zagari ve ark. 2018).

2.1.5.2. İkinci basamak tedavi

Birinci basamak tedavinin başarısız olduğu durumlarda, ikinci basamak tedavi ilk tedavide kullanılan antibiyotikleri içermemelidir. Bizmut dörtlü tedavisi veya levofloksasin üçlü tedavisi bir sonraki tercih edilen tedavi olmalıdır. Bizmut dörtlü tedavi başarısızlığından sonra PPI, levofloksasin ve amoksisilin içeren levofloksasin üçlü tedavisi önerilmektedir (Bjorkman ve Steenblik 2017, Zagari ve ark. 2018).

2.1.5.3. Üçüncü basamak tedavi

İkinci basamak tedavinin başarısızlığı durumunda uygulanacak tedavi rejimi fenotipik ya da genotipik olarak ilaç direnç profillerine dayalı verilmelidir. Fakat

antimikrobiyal duyarlılık testinin yapılması her laboratuvarında rutin olarak uygulanan bir yöntem olmadığı için her zaman yapılamamaktadır. Üçüncü basamak tedaviler hasta tarafından birinci veya ikinci basamak tedavilerde kullanılmayan ilaçlardan oluşan üçüncü basamak tedavi protokülünü ihtiva etmektedir (Malfertheiner ve ark. 2017).

Bizmut bazlı dördümlü levofloksasin tedavisi veya rifabutin içeren üçlü tedavi (PPI, rifabutin ve amoksisilin) üçüncü basamak tedaviler için etkili alternatifler olabilmektedir *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisini en iyi şekilde optimize etmek için hastanın daha önce antibiyotiklere maruz kalma durumunu göz önünde bulundurmalı, yüksek dozda PPI (günde tek doz yerine iki kez standart doz) reçete edilmeli ve tedavi başarısızlığından sonra aynı rejimin kullanılmasından kaçınılmalıdır (Zagari ve ark. 2018).

2.1.6. Antibiyotik Direnci

Çalışmalarda tedavi başarısızlığının en büyük sebebinin antibiyotik direnci olduğu bildirilmiştir (Fischbach ve ark. 2002, Fischbach ve ark. 2004). Ne yazık ki, *H. pylori* enfeksiyonuna karşı geleneksel olarak kullanılan antibiyotik kombinasyonlarının bu etkene karşı etkinliklerini kaybettiği bir noktaya gelinmiştir. Son yıllarda yetersiz eradikasyon oranları nedeniyle klaritromisin direncinin yüksek olduğu bölgelerde birinci basamak ampirik tedavi olarak standart klaritromisin bazlı üçlü tedaviyi artık önerilmemektedir (Yeo ve ark. 2018, Fallone ve ark. 2019).

WHO bu durumu dikkate alarak 2017'de küresel farkındalığı artırma, araştırmaları artırma ve yeni tedavilerin geliştirilmesini teşvik etmek amacıyla *H. pylori*'yi tedavi edilmesi gerekli yüksek öncelikli bir bakteri olarak sınıflandırmıştır (Dang ve Graham 2017).

Bir çalışmada klaritromisin, metronidazol, levofloksasin, amoksisilin ve tetrasiklin gibi yaygın olarak kullanılan antibiyotikler için *H. pylori* ile ilişkili antibiyotik direncinin küresel olarak yaygınlığı ve yüksekliği gösterilmiştir. Avrupa'da (Birleşik Krallık, İtalya, Fransa, İsrail'in de dahil olduğu 15 ülkede) klaritromisin direnci %29 (%25-31), metronidazol direnci %38 (%33-42) olarak bildirilmiştir. Batı Pasifik'te (Avustralya, Çin ve Japonya dahil on ülke) klaritromisin direnci %34 (%30-38), metronidazol direnci %55 (%51-59) olarak bildirilmiştir. Bunun yanında Meksika, ABD, Kanada, Peru'nun dahil

olduğu Güney Amerika'da klaritromisin direnci %14 (%9-19) ve metronidazol direnci ise %27 (GA 14-39) olarak daha düşük oranda bulunmuştur. Klaritromisin ve metronidazol direnç oranları birinci basamak ajanlar olarak sürekli kullanımları göz önüne alındığında önemli olsa da bu çalışmada bildirilen özellikle yüksek levofloksasin direnç oranları endişe verici düzeylerde (>%14). Bu veriler bir rezerv antibiyotik ilaç olarak düşünülen Levofloksasin için endişe verici boyutlardadır. Güney Amerika ve Asya'da amoksisilin direnci yüksek olsa da ABD'de düşük olduğu bildirilmektedir. (Savoldi ve ark. 2018)

Antibiyotik direncinin çeşitli faktörlerle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Bakteri titrasyonundaki artışın dirençli bakteri popülasyonu geliştirme olasılığını da arttırdığı bilinmektedir. Bunun yanında mikroorganizmanın geçirdiği spesifik mutasyonların bakterinin antimikrobiyal tedaviye duyarlılığını da etkileyebileceği bildirilmiştir. Sözelimi oksijene duyarsız NADPH nitroredüktaz (rdxA) genindeki tespit edilen mutasyonlar ilacın hücre içinde aktivasyonunu bozduğundan metronidazol direncine yol açabilmektedir (Alba ve ark. 2017).

Benzer şekilde, klaritromisin, levofloksasin, amoksisilin ve tetrasiklin direnci içinde çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ayrıca, antimikrobiallerin etkili olması için *H. pylori*'nin aktif olarak replike olması gerekmektedir. Bu durum gastrik pH'dan ve/veya spesifik bakteri suşlarının fenotipik özelliklerinden etkilenen bir faktördür (Keren ve ark. 2004).

Daha önce tarif edildiği gibi *H. pylori* daha alkali ortamları tercih etmektedir, bu nedenle daha yüksek gastrik pH (~6) bakterinin replikasyonunu arttırmaktadır. Ayrıca, mide epiteli içinde hücre içi olarak kalan herhangi bir bakteri esas olarak antimikrobiyal maruziyetten kaçınmaktadır (Giannakis ve ark. 2008). Bu nedenle antibiyotik PPI ve bizmut tedavisinin dozunu veya süresini artırmak teorik olarak avantajlı olabilmektedir. Fakat ne yazık ki, florokinolon ve amoksisilin direnci, doz ayarlamaları veya tedavi süresindeki değişikliklerle aşılamamaktadır (Lim ve ark. 2016).

Levofloksasin direnci dünya çapında yaygın olduğu için *H. pylori* tedavisinde birinci basamak antibiyotik olarak kullanılmamaktadır. Ne yazık ki, *H. pylori* antibiyotik direncindeki bu küresel artışa katkıda bulunan faktörleri açıklamak için doğrudan bir cevap yoktur. Yükselen ilaç direnci güçlü silahların olmayışı tedavinin gidişatını doğrudan etkilemektedir (Savoldi ve ark. 2018).

Bunun yanında araştırmalarda gastroenterolog veya birinci basamak hekimlerinin diğerk tüm klinisyenlerin tedavi rehberlerine uygun davranmadıklarını da göstermektedir. Bir çalışmada gastroenterologların %26'sının ve birinci basamak hekimlerinin %43'ünün dispepsiyi yanlış tanımladığı da tespit edilmiştir (Spiegel ve ark. 2009).

Ayrıca, dahiliye uzmanlarının %14'ünün ve pratisyen hekimlerin %27'sinin *H. pylori*'yi doğrulayıcı tanı testleri olmaksızın ampirik olarak tedavi ettikleri bildirmiştir. Enfekte bireylerde eradikasyon tedavisinin gecikmesi ve tedaviden sonra eradikasyonu doğrulamak için test eksikliği dahil olmak üzere diğerk çalışmalarda da benzer sonuçlar bildirilmiştir (Rubin ve ark. 2018, Spiegel ve ark. 2009).

H. pylori enfeksiyonunu tedavi protokolü diğerk bulaşıcı hastalıkların tedavi protokollerinden oldukça farklıdır. *H. pylori* tedavisi mümkünse lokal ve bireysel antibiyotik direnç modellerine dayanmalıdır. *H. pylori* enfeksiyonunu için en iyi tedavi protokolü, duyarlılık testi yoluyla (bakteri kültürü veya moleküler yöntemlerle) antimikrobiyal direncin tespit edilmesi sonrası belirlenmelidir (Smith ve ark. 2014).

Antimikrobiyal direnç bilgisine dayalı bir tedavi, ampirik bir tedaviden daha etkilidir (Arslan ve ark. 2017). Mide biyopsi örneklerinden *H. pylori* izole etmek oldukça zor olup her zaman başarılı olunamamakta ve sonuç olarak antibiyotik direncinin test edilmesi her zaman mümkün değildir. Bununla birlikte öncelikle artan antimikrobiyal direnç ve değışken epidemiyoloji nedeniyle ampirik tedavinin etkinliği de azalmaktadır. Antimikrobiyal direnç tedavi başarısızlığının en yaygın nedenlerinden biridir. *H. pylori*'de antibiyotik direncinin gelişimi ile birkaç mekanizmanın ilişkili olduğu bildirilsede gen mutasyonları primer rol oynamaktadır (Hu ve ark. 2016).

İlaç direnci sonuçlarını analiz etmek ve karşılaştırmak için antibiyotik duyarlılık testi için kullanılan metodları dikkate almak önemlidir. *H. pylori* antimikrobiyal direncinin yaygınlığı, terapötik rejimlerde başarısızlıklara ve düşük eradikasyon oranlarına neden olmaktadır.

2.1.6.1.Klaritromisin Direnci

Aside dayanıklı bir bakteriyostatik makrolid olan klaritromisin bakteri protein sentezini inhibe etmektedir. *H. pylori*'de klaritromisine direnç nokta mutasyonları kaynaklıdır (Gerrits ve ark. 2006).

Klaritromisin bazı popülasyonlarda *H. pylori* enfeksiyonuna karşı kullanılan ilk

seçenek antibiyotik olduğundan klaritromisin direnci tedavi etkinliğini önemli derecede etkilemekte ve *H. pylori* için tercih edilen birinci basamak tedavileri belirlemektedir. Klaritromisine *H. pylori* direncinin dünya çapında prevalansı %0-85 arasında oldukça değişken olarak bildirilmiştir Asya'da %85, Avrupa'da %72, Amerika'da %71, Afrika'da %29 ve Okyanusya'da %9 olarak bildirilmiştir. Bazı bölgelerde klaritromisine direnç oranının oldukça yüksek olduğu ve zamanla arttığı bildirilmiştir. Örneğin Asya-Pasifik bölgesi, Vietnam, Çin ve Japonya'da %51-86 arasında değişmektedir (Gerrits ve ark. 2006, Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017).

Son zamanlarda Avrupada (%17.5'e kadar), İtalya, Polonya, İrlanda ve İspanya'da %50-%72 arasında değişen yüksek direnç oranları bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Macias-Garcia ve ark. 2017). ABD, Peru, Arjantin, Meksika ve Brezilya gibi Amerika ülkeleri ve Fas, Uganda ve Cezayir gibi Afrika ülkeleri için de yüksek klaritromisin direnç oranları (%70'e kadar) bildirilmiştir. (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Zerbetto ve ark. 2017, Angol ve ark. 2017, Raaf ve ark. 2017). Direnç oranlarının %15'in üzerinde olduğu tüm bu bölgelerde, klaritromisin üçlü tedavisi yerine ya bizmut dördütlü tedavisi ya da eş zamanlı tedavi kullanılmalıdır. Buna karşın birçok Asya ve Avrupa ülkesinde yapılan çalışmalarda klaritromisin direncinin %15'den daha düşük olduğu bildirilmiştir (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Dargiene ve ark. 2018).

WHO 2017 yılında klaritromisine dirençli *H. pylori*'yi tedavi gerektiren yüksek öncelikli bir patojen olarak listelemiştir (Abadi ve ark. 2017). Dünya çapında klaritromisin direnci oranlarındaki bu değişkenlik, enfeksiyona karşı tedavi protokollerinin seçimi için mevcut bölgesel direnç oranlarını izlemenin önemini vurgulamaktadır (Thung ve ark. 2016).

2.1.6.2. Metronidazol Direnci

Metronidazol nitro radikal anyonlarının oluşumu yoluyla bakteriyel DNA'ya zarar veren bakterisidal nitroimidazol ilaçlardır. *H. pylori*'de metronidazol direncinin birincil mekanizması, elektron taşıma proteinlerinin azaltılmış aktivitesinin neden olduğu imidazol redüksiyonunun engellenmesini içermektedir (Gerrits ve ark. 2006).

Günümüzde metronidazol ve klaritromisin direnci yaygın kullanımıyla ilişkili olarak tüm dünyada yüksek oranlara ulaşmıştır (Thung ve ark. 2016). Metronidazol jinekolojide, dış ve parazit hastalıkları ile ilgili çeşitli enfeksiyon etkenlerine karşı da sıklıkla seçilen bir

ilaçtır. Nitroimidazol direnci *H. pylori*'de en sık gözlenen antimikrobiyal dirençtir (Arslan ve ark. 2017).

Bununla birlikte, *H. pylori*'de metronidazol direncinin dünya çapında yaygınlığının oldukça değişken olduğu yapılan çeşitli çalışmalarda direnç oranının %20-99.5 arasında değiştiği bildirilmiştir. Metronidazol direncinin Asya'da %99.5, Amerika'da %79.4, Avrupa'da %83, Okyanusya'da 57 ve Afrika'da %45 düzeylerine kadar çıktığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Genel olarak metronidazol direnç oranları dünya çapında birçok ülkede artma eğilimindedir (Gerrits ve ark. 2006). Asya-Pasifik ülkelerine metronidazol direncinin ortalamasının üzerinde olduğu (%44), Asya/Okyanusya'daki birçok ülke ortalamasının %32-99 arasında değiştiği bildirilmiştir. (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Khoury ve ark. 2017, Kori ve ark. 2017, Pastukh ve ark. 2018).

Bunun yanında, ABD, Peru ve Arjantin gibi ülkelerde metronidazol direnç oranlarının %30-82 arasında Cezayir ve Fas gibi Afrika ülkelerinde ise %40-45 arasında olduğu bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Zerbetto ve ark. 2017, Raaf ve ark. 2017). Avrupanın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda ise metronidazol çalışmaları genel olarak %30 dolaylarında olarak bildirilmiştir. (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Macias-Garcia ve ark. 2017, Dargiene ve ark. 2018, Ruiter ve ark. 2017).

2.1.6.3.Amoksisilin direnci

Amoksisilin orta spektrumlu bakterisidal, Beta Laktam grubu bir antibiyotiktir. *H. pylori*'deki amoksisilin direncinin primer mekanizması değişen penisilin bağlayıcı proteinler veya azalmış hücre zarı geçirgenliği ile ilişkilidir. *H. Pylori*'de amoksisilin direnç oranları dünyanın çeşitli bölgeleri için oldukça değişen oranlarda olarak bildirilmiştir. Özellikle bu antibiyotiğin reçetesiz tedarik edilebildiği bölgelerde direnç oranlarının daha yüksek olarak seyrettiği bildirilmiştir (Gerrits ve ark. 2006).

Kıtalar arasında amoksisilin direnci oranlarının yaygınlığı Asya'da %53, Amerika'da %33, Avrupa'da %10, Okyanusya'da %5 olduğu, Afrika'da ise direncin çok düşük olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda amoksisilin direncinin çoğu ülkede oldukça düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir. Pakistan, İran, Çin, Japonya ve Hindistan gibi bazı

Asya ülkelerinde amoksisilin direnç oranlarının %15-37 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kuo YT ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu Y ve ark. 2017a, Alba ve ark. 2017).

Amoksisilin direncinin Türkiye, Güney Kore, İsrail, Vietnam, Suudi Arabistan, Bangladeş, Endonezya, Yeni Zelanda, Singapur, Tayland ve Tayvan gibi ülkelerde %15 dolaylarında olduğu bildirilmiştir (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Khoury ve ark. 2017, Kori ve ark. 2017, Pastukh ve ark. 2018).

Asya-Pasifik bölgesinde direnç oranı %3 olarak bildirilirken (Kuo YT ve ark. 2017), Nepal, Avustralya, Butan, Hong Kong, Malezya, Myanmar ve Rusya ile Afrika ülkeleri, Cezayir ve Fas'ta ise direnç bildirilmemiştir (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Raaf ve ark. 2017).

Amoksisilin direnci bazı Avrupa ülkelerinde (Almanya, İtalya ve Fransa gibi) çok düşük düzeyde (<%1) bildirilirken bazı ülkelerde ise (İzlanda, Polonya ve Litvanya gibi) direnç bildirilmemiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu Y ve ark. 2017a, Alba ve ark. 2017, Dargiene ve ark. 2018). Buna karşı %10 seviyelerinde direnç olduğu bildirilen Avrupa ülkeleri (Bulgaristan, İspanya ve Hollanda)'de bildirilmiştir (Alba ve ark. 2017, Macias-Garcia ve ark. 2017, Ruiter ve ark. 2017).

2.1.6.4.Tetrasiklin direnci

Tetrasiklin protein sentezini ve dolayısıyla bakteri replikasyonunu engelleyen bakteriyostatik bir antibiyotiktir. *H. pylori*'de tetrasikline direncin primer mekanizması tetrasiklinin primer bağlanma bölgesindeki gen mutasyonlarıdır. *H. pylori*'de tetrasiklin direncinin Dünya çapında yaygınlığı farklı oranlarda bildirilmiştir. Sözgelimi direncin Asya'da %32, Avrupa'da %14, Amerika'da %4, Okyanusya'da %1.0 ve Afrika'da direncin çok daha düşük düzeylerde olduğu bildirilmiştir (Gerrits ve ark. 2006).

Asya-Pasifik ülkelerinde direncin %4, Türkiye, Pakistan, Hindistan, İsrail, Bangladeş, Singapur, Çin, Türkiye, Suudi Arabistan, Japonya, Avustralya, Tayvan, Tayland ve Endonezya gibi ülkelerde ise %15 dolaylarında olduğu bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Khoury ve ark. 2017, Kori ve ark. 2017, Pastukh ve ark. 2018).

Avrupa'da tetrasiklin direncinin genel ortalaması %1'den düşük iken, Bulgaristan, İtalya, Hollanda, Almanya ve İspanya'da daha yüksek direnç oranları (yaklaşık %4) bildirilmiştir (Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017, Macias-Garcia ve ark. 2017).

Latin Amerika'da direncin %6, Peru ve ABD ise %4 dolaylarında olduğu bildirilmiştir (Arslan ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017a, Alba ve ark. 2017). Buna karşın direncin çok yüksek seyrettiği ülkeler de (Kore: %32, İran: %29, Vietnam: %24) mevcuttur (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017).

2.1.6.5. Levofloksasin direnci

Levofloksasin dahil olmak üzere florokinolonlar bakteriyel DNA replikasyonunu inhibe eden bakterisidal antibiyotiklerdir. *H. pylori* izolatlarının çoğu florokinolonlara duyarlı olmasına rağmen, *H. pylori*'deki florokinolonlara olan direnç nokta mutasyonlarıyla ilişkilidir (Gerrits ve ark. 2006). Florokinolon direnci kapsamlı bir şekilde araştırılmamış olsa da, *H. pylori*'deki levofloksasin direncinin artış eğilimli olduğu bildirilmektedir (Thung ve ark. 2016). *H. pylori*'de levofloksasin direncinin dünya çapındaki %0- 20 arasında değiştiği bildirilmiştir (Gerrits ve ark. 2006). Çalışmalarda direnç oranlarının Asya'da %18, Avrupa'da %14 ve Latin Amerika'da %15 dolaylarında olduğu bildirilmektedir. Ancak Asya'da %56, Amerika'da %54, Avrupa'da %43, Afrika'da %42 ve Okyanusya'da %10'a varan yüksek direnç oranları da bildirilmiştir (Arslan ve ark. 2017, Kuo ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017).

Levofloksasin direnç oranları ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Türkiye, Bangladeş, Çin, Japonya, Nepal, Rusya, Endonezya, Kore, Vietnam, İsrail, Pakistan, Hong Kong ve Tayland gibi ülkelerde direncin %15-66 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017a, Alba ve ark. 2017, Khoury ve ark. 2017, Kori ve ark. 2017, Pastukh ve ark. 2018).

Avrupa'da İtalya, İspanya, Bulgaristan ve Fransa gibi ülkelerde yüksek oranlarda (%15-43) direnç olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde Amerika kıtasında bazı ülkelerde (Peru, ABD, Arjantin ve Kolombiya) direnç oranlarının yüksek (%18-54) olduğu bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017a, Alba ve ark. 2017, Macias-Garcia ve ark. 2017).

Bununla birlikte, Singapur, İran, Laos, Suudi Arabistan, Tayvan, Yeni Zelanda, Hindistan, Myanmar, Butan ve Malezya gibi Asya-Pasifik ülkeleri için %15'ten daha düşük levofloksasin direnç oranı bildirilmiştir (Kuo ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017). Avusturya, İrlanda, Almanya, Polonya, Yunanistan ve İzlanda dahil olmak üzere Avrupa'da levofloksasin direncinin ortalama %14 seviyelerinde olduğu

bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Alba ve ark. 2017). Direncin Brezilya, Fas ve Cezayir ise %15'ten düşük seviyelerde olduğu bildirmiştir (O'Connor ve ark. 2017, Raaf ve ark. 2017).

2.1.6.6.Rifampisin direnci

Rifampisin türevleri ve rifabutin bakteriyel DNA transkripsiyonunu inhibe eden bakterisidal antibiyotiklerdir. *H. pylori*'de bu antibiyotiklere direnç nokta mutasyonlarla gelişmektedir. *H. pylori*'de dünya çapında rifabutin direnci prevalansı oldukça düşük düzeylerde olarak bildirilse de son yıllarda dikkate değer artışların olduğu ülkeler rapor edilmiştir (Amerika'da: %46, Avrupa'da %33 ve Okyanusya'da %23) (Gerrits ve ark. 2006).

2.1.6.7.Furazolidon direnci

Furazolidon nitro radikal anyonlarının oluşumu yoluyla bakteriyel DNA'ya zarar veren bir nitrofuran antibakteriyel ajandır. *H. pylori*'deki furazolidon direncinin mekanizması hala bilinmemektedir. Furazolidon yakın zamanda *H. pylori* tedavisine dahil edilse de dirence rastlanıldığı çalışmalarda bildirilmiştir. Dünya genelinde direnç oranlarının %0-5 arasında değiştiği bildirilse de özellikle bazı ülkelerde yüksek direnç oranlarına (Asya'da %63, Amerika'da %13) rastlanmaktadır (Gerrits ve ark. 2006).

Direnç oranları genellikle %2'yi geçmediği bildirilmiş olmasına rağmen ekstrem oranlarda çarpıcı direnç oranları da bildirilmektedir (Çin'de %0.6-1.9, Güney Kore'de %1.4, Malezya'da %0, Pakistan'da %4.3, Brezilya'da %0-13, Hindistanda %14-22, İran'da %0-62.5). (Bjorkman ve ark. 2017, O'Connor ve ark. 2017, Hu ve ark. 2017, Zamani ve ark. 2017, Mahmoudi ve ark. 2017).

2.2. Yeni Tedavi Yaklaşımları

Her ne kadar bu ilaçlar tedavide değişen oranlarda başarılı sonuçlar alınsa da yeni ilaçların (Vonoprazan fumarat gibi) tedavide kullanımı konusunda çalışmalar da mevcuttur. Bunun yanında *H. pylori* tedavisinde sentetik ve doğal ürünler üzerinde gerek antimikrobiyal etkinliğe sahip ve gerekse de antivirulan karakterde yeni sentez ve/veya ürünlerin araştırılması konusunda çalışmalar sürdürülmektedir. Özellikle de tedavi başarısındaki dalgalanmalar, artan ilaç direnci ve rekürren enfeksiyonların sıklıkla görülmesi yeni ve etkili doğal ürünler üzerindeki çalışmaların önünü açmıştır. Doğal ürünler konusunda yapılan

Çalışmaların bir bölümü tıbbi ve aromatik bitkilere veya bunların kimyasal bileşiklerine dayanmakta iken bir kısım çalışmaların da mikrobiyal ürünler üzerinde (enzim, antimikrobiyal peptit, protein vs) yoğunlaşmaktadır (O'Connor ve ark. 2017, Mascellino ve ark. 2017).

Gastrointestinal enfeksiyonların tedavisinde probiyotiklerin rolü antibiotik kullanımını veya yan etkilerini azaltma potansiyeli ile antibiotiklere alternatif veya tedavide tamamlayıcı olarak kullanımı giderek artmaktadır. Konvansiyonel bir antibiotik bazlı tedavisinin bulunmasına rağmen *H. pylori* uzun ve kombine antibiotik kullanılması gerektiğinden hem ekonomik hem de konak üzerinde ciddi olumsuz etkileri olması açısından ve ilaç direncinin giderek artması sorunun daha da büyüyeceği küresel bir boyut kazanacağı aşıkardır.

Probiyotiklerin *H. pylori* zerinde in-vitro inhibitör etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Hayvan alışmaları probiyotik tedavisinin *H. pylori* ile ilişkili mide inflamasyonunu azaltmada etkili olduğunu göstermiştir. *H. pylori*'ye karşı antibiotik ve probiyotik kombinasyonlarının etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarla *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisi için antibiotiklere alternatif olarak probiyotik kullanımı konularında çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalarda elde edilen çelişkili sonuçlar bu konularda daha kapsamlı ve sonuçlarının güvenirliliği açısından yeni çalışmaların yapılması ihtiyaını doğurmuştur. Çalışmaların çoğunda probiyotik kullanımını takiben *H. pylori* etkenli gastritte mikrobiyal kolonizasyonun azaldığı bildirilmektedir. Ancak bildiğimiz kadarıyla hiçbir çalışmada probiyotik tedavisi ile *H. pylori* enfeksiyonunun tamamen ortadan kaldırıldığı bildirilmemiştir. Probiyotik kombinasyonları kullanımının konvansiyonel *H. pylori* tedavisine yardımcı olabilmekte, antibiotiklerin yan etkilerinin azaltabilmekte ve dolayısıyla *H. pylori* ile enfekte konakta birtakım olumlu etkilerinden bahsedilebilmektedir. Ayrıca, probiyotik suşlar içeren ürünlerin uzun süreli tüketiminin özellikle yüksek dereceli mide inflamasyonu ile ilişkili rahatsızlıkların gelişimini azalttığı, *H. pylori* enfeksiyonuna karşı faydalı etkilerinden olduğu bildirilmiştir.

Bu probiyotik mikroorganizmalar arasında streptokoklar, Laktobasiller önemli probiyotik mikroorganizma genuslarıdır. *S. thermophilus* ve *L. casei* birçok fermente gıdada bulunan insan sağlığı açısından gerek salgı ve enzimleriyle gerekse de biyoaktif komponentleriyle son derece faydalı probiyotik mikroorganizmalardır.

2.2.1. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus (*S. thermophilus*) kısa zincirler halinde üreyen, optimal üreme ısısı 42 °C olan termofilik Gram pozitif bir koktur. *S. thermophilus* süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan homo-fermentatif termofilik bakterilerden biridir (Fernandez ve ark. 2017, Freitas 2017). Gıda endüstrisinde (yoğurt ve peynir üretiminde) kullanılan tek streptokoktur. Gıda endüstrisindeki kullanımı laktik asit üretimi ve format, asetaldehit ve diasetil gibi ikincil fermentasyon ürünlerinin gıdaya aroma kazandırmasına dayanır. Son yıllarda mikrobiyota ilişkili çalışmaların artması ile birlikte probiyotik olarak kullanımı gündeme gelmiştir. Birçok çalışmada insan gastrointestinal sisteminde *S. thermophilus*'un yaşabildiğini göstermiştir. Çalışmalarda *S. thermophilus*'un yoğun asetil salisilik asit kullanımına bağlı olarak şekillenen kronik gastrit olgularında tedavi edici özelliğinin olduğu bildirilmiştir. Bakteri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin immun sistemi stimule ederek konaktaki ülser oluşumu üzerine inhibitör bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca viral ve bakteriyel kaynaklı diarre olguları ve antibiyotik kullanımına bağlı diarre olgularında etkinliği tespit edilmiştir. *S. thermophilus*'un biyoaktif metabolitlerinin birçok bakteriye karşı antibakteriyel etkinliği, antioksidan aktivitesi, immunmodulator özellikleri gastrointestinal sistem bariyerine olan olumlu etkileri belirlenmiştir (Rodríguez ve ark. 2010).

Ekzopolisakkaritler dallanmış tekrarlayan şeker veya şeker türevlerinden oluşan uzun zincirli polisakkaritlerdir. Bazı *S. thermophilus* suşları süt ürünlerinin viskozitesini, dokusunu ve ağızda bıraktığı hissi iyileştirebildiği ve yoğurtta sineresisi önleyebildiği için uzun süredir yoğun ilgi gören EPS'yi sentezleyebilmektedir (Purwandari ve ark. 2007). Bu nedenle EPS üretimi *S. thermophilus* suşlarının en önemli ve cezbedici özelliklerinden biridir. Aynı zamanda *S. thermophilus*'un Genel olarak güvenli kabul edilen (generally recognized as safe, GRAS) probiyotik durumu nedeniyle EPS'leri gıda endüstrisinde kıvam arttırıcı, stabilizatör, emülgatör, jelleştirici ajan ve su bağlayıcı ajan vb. olarak kullanılabilir (Marette ve Picard-Deland 2014, Freitas ve ark. 2011).

Son zamanlarda *S. thermophilus*'tan elde edilen EPS'lerin antibakteriyel ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu, konakçı sağlığı açısından faydalı olduğu ve epitelyal hücre yenilenmesini ve immünolojik doğal savunma mekanizmalarını uyardığı bildirilmektedir (Ren ve ark. 2016, Zhang ve ark. 2016). Tanımlanmış biyoaktif ve probiyotik özelliklere sahip *S. thermophilus* EPS'leri çeşitli tıbbi ve farmasötik endüstrilerde

antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar ve immünomodülatör ajanlar olarak geliştirme ve kullanım potansiyeline sahiptir. EPS'ler hücre içi enzimleri içeren karmaşık bir etkileşim dizisi ile hücre içinde sentezlenmekte ve daha sonra özel lipid taşıyıcı yoluyla makromoleküller olarak hücre dışı ortama salınmaktadır (Laws ve ark. 2001).

2.2.2. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus genusu *Lactobacillaceae* familyasının en geniş grubudur. *Lactobacillus casei* Gram pozitif, fakültatif anaerob veya mikroaerofilik, spor oluşturmeyen, asidotoleran, katalaz negatif çomak şekilli bir bakteridir (Salveti ve ark. 2012). Meyve, sebze, et, şarap gibi fermente gıdaların yanısıra insan ve hayvan gastrointestinal sistemi ve vajinanın normal yerleşenleri arasında yer almaktadır (Pot ve ark. 2014, Tamang ve ark. 2015). Günümüzde gıda, yem, ilaç ve biyoteknoloji alanında starter kültür, probiyotik, aşı suşu olarak da kullanılmaktadır (Giraffa ve ark. 2010).

Probiyotikler yeterli miktarda uygulandığında konakçıya fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2001; Hill ve ark., 2014). Elie Metchnikoff'un günlük fermente süt ürünlerinin tüketiminin insan sağlığı üzerinde faydalı bir etkisi olduğunu öne sürmesinden bu yana faydalı olan bakteriler araştırılmaktadır (Özen ve Dinleyici, 2015). Günümüzde probiyotik mikroorganizmalar gıda, biyoteknoloji ve tıbbın çok çeşitli alanlarında çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır (Sanders ve ark. 2016). Atopik dermatitten kansere kadar çeşitli sağlık sorunları için *Lactobacillus casei*'nin faydalı etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Bu mikroorganizmaların doğrudan veya dolaylı olarak insan sağlığı üzerinde yararlı bir etkiye sahip olma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamış olup daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu mikroorganizmalarla ilgili olarak potansiyel mekanizmaları arasında bakteriyosinler gibi antimikrobiyal maddelerin üretimi, adezyon yoluyla epitel bariyerinin güçlendirilmesi, patojenik bağlanma bölgeleri için rekabet veya bağışıklık sisteminin modülasyonu gibi görüşlere yer verilmektedir (Bermudez-Brito ve ark. 2012).

Probiyotiklerin insan sağlığı açısından canlı bakterilerin uygulanması yanında immun sistemi modüle edebilecek mikroorganizma bileşenlerinin kullanımının önemli ve etkili olabildiği de bildirilmektedir. *L. casei* suşlarının sindirim sisteminden geçerken hayatta kalma ve potansiyel olarak bağırsakta kolonize olma yeteneği mikroorganizmanın insan sağlığı üzerinde doğrudan etkili olmasında önemli olarak değerlendirilmektedir.

Ancak, bakteriyel komponentlerin de sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin olabildiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Bir çalışmada bir fare kolit modelinde ısıyla inaktive edilmiş *L. casei* suşu kullanılmış hem inaktif hem de canlı suşların bir inflamatuvar bağırsak hastalığı modeli üzerinde terapötik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Thakur ve ark. 2016).

Bu yöntemin avantajı, suşun bağırsaktan geerirken hayatta kalması ihtiyacını ortadan kaldırması ve kolonizasyon gerekmediğinden daha tutarlı bir etki sağlayabilmesidir. EPS'ler bazen strese tepki olarak çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir. Ayrıca EPS'nin immunregülatör etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Ryan ve ark. 2015; Caggianiello ve ark. 2016).

Önceki yapılan çalışmalarda Laktobasillerin *H. pylori*'ye karşı önemli etkinliklerinin olduğu bildirilmiştir. Bu grup mikroorganizmalardan *L. paracasei*'nin *H. pylori* tedavisinde yardımcı bir tedavi olarak kullanımı ve bağırsak mikrobiyotasının modüasyonu dahil olmak üzere çeşitli faydalarından bahsedilmiştir. *L. paracasei* tarafından salgılanan EPS'nin tedavide olumlu katkılarının olabileceği bildirilmiştir (Balzarette ve ark. 2017).

Probiyotikler kanser tedavisinde faydaları etkileri ve yardımcı bir tedavi seçeneği olabilmesi açısından da çeşitli çalışmalarda da araştırılmıştır (Huang ve ark. 2016, So ve ark. 2017). Kanser, tedavisi veya önlenmesi hususunda yoğun çalışmaların yapıldığı küresel bir sağlık sorunudur (WHO, 2015).

L. casei'nin hem murin hem de insan kolon karsinomu hücre hatları kullanılarak kolon kanseri üzerinde etkinlikleri araştırılmıştır (Tiptiri-Kourpeti ve ark. 2016). İki hafta süre ile *L. casei* ile beslenen farelerde tümör hacminde yaklaşık anlamlı küçülmelerin olduğu bildirilmiştir. Mikroorganizmanın kanser hücre canlılığında azalmaya yol açtığı ve apoptotik hücre ölümünü indüklediği bildirilmiştir. Mekanizmalar tam olarak anlaşılmamakla birlikte bu alışma *L. casei*'nin kanser tedavisinde kullanımı için umut verici olmuştur. *L. casei* suşları ayrıca geç evre kolorektal kanserde profilaktik etkinliği araştırılmıştır. Kolorektal kanserden ölümün ana nedeni kanser hücrelerinin diğer organlara yaptığı metastaz olduğu bildirilmiştir. *L. casei* ve *L. rhamnosus*'tan elde edilen cell-free süpernatantın kanser hücrelerinin metastatik etkinliğini azalttığı da bildirilmiştir (Escamilla ve ark. 2012).

2.2.3. Glycyrrhetic asit

Doğal ürünlerin sağlıklı hücreler üzerindeki düşük toksisitelerinden dolayı kullanımı

giderek artmakta olup tüm dünyada doğal ürünler birçok enfeksiyon etkenine karşı araştırmalarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Mide rahatsızlıklarında uzun yıllardan beri halk tıbbında kullanılan doğal ürünlerden biri meyan kökü bitkisidir. Meyan kökü yaygın farmakolojik etkilerinden dolayı mide rahatsızlıklarının giderilmesinde kullanılagelmiştir. Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*)'nın aktif bileşeni Glycyrrhizin (Glycyrrhizic acid, glycyrrhizinate)'dir. Glycyrrhetinic asit, meyan kökünün bir bileşeni olan Glycyrrhizic asit'in hidrolitik bir ürünüdür. Meyan kökü olarak da adlandırılan *Glycyrrhiza glabra*'nın zengin farmakolojik etkileriyle bilinen Güney Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde yetişen bir bitkidir. Glycyrrhetinic asit; meyan kökü ekstraktından elde edilen, anti-inflamatuar, antiülser, antiallerjik, antidot, antioksidan, antitümör ve antiviral ve antibakteriyel etkinliği olan biyoaktif triterpene glikozittir.

Glycyrrhetinic asit; geleneksel tıpta mide-bağırsak sorunları, öksürük, bronşit ve artrit için ortak bir tedavi olarak tavsiye edilir. Özellikle Geleneksel tıpta gastrit, peptik ülser, solunum yolu enfeksiyonları ve titremeleri tedavi etmek için hala yaygın olarak kullanılmaktadır (Armanini ve diğerleri, 2002).

Aslında *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*)'nın en önemli endüstriyel kullanımı, tatlandırıcılar ve tatlandırıcı maddeler gibi gıda katkı maddelerinin üretimidir (Mukhopadhyay & Panja, 2008). Özellikle meyan kökü Amerikan tipi tütün, sakız, şekerlemeler, unlu mamüller, dondurma ve alkolsüz içecekler için aroma verici olarak kullanılmaktadır (Rizzato ve ark. 2017). Biralarda ve yangın söndürücülerde kök ekstraktları köpürtücü olarak kullanılırken kök lifleri ise tıbbi ve aroma bileşenlerinin uzaklaştırılmasından sonra izolasyon, duvar ve karton malzemelerinde de kullanılmaktadır. Kozmetik alanında, *G. glabra* bir cilt depigmentasyon maddesi olarak tanımlanmıştır ve bu amaçla topikal ürünlere katılmaktadır. Meyan kökü ekstresi ve glisirhizin, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi, Avrupa Konseyi ve Gıda Katkı Maddeleri Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen bir komponenttir (FAO, 2005).

Son yıllarda meyan kökünün kimyasal bileşenleri üzerinde çok çeşitli çalışmaların yapıldığı bilinmektedir (Hayashi ve ark. 2016, Siracusa ve ark. 2011). Meyan kökü proteinler, amino asitler, polisakkaritler ve basit şekerler, mineral tuzlar (kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum, demir, magnezyum, silikon, selenyum, manganez, çinko ve bakır gibi), pektinler, reçineler, nişastalar, steroller ve sakızlar gibi çeşitli kimyasal komponentler ihtiva

etmektedir. Ayrıca, östrojenler, tanenler, fitosteroller (sitosterol ve stigmasterol), kumarinler, vitaminler (B1, B2, B3, B5, E ve C) ve glikozitlerin varlığı da yapısında bildirilen bileşiklerdendir (Wang ve ark. 2015). Meyan kökünün temel bileşenlerini triterpenler, saponinler ve flavonoidler gibi çok sayıda yüksek farmakolojik etkinliğe sahip bileşikler oluşturmaktadır (Rizzato ve ark. 2017). Meyan kökünün ana karakteristik bileşenleri olan triterpen saponinler tat komponentidir. Bu bileşiklerin içerikleri meyan kökünün terapötik etkilerini etkileyen coğrafi kaynaklar, hasat ve işleme nedeniyle önemli ölçüde değişebilmektedir (Wang ve ark. 2015).

Köklerin ana bileşeni birincil aktif bileşen olan sakkarozdan yaklaşık 50 kat daha tatlı bir triterpenoid saponin olan glycyrrhizindir (Yu ve ark. 2015). Glycyrrhizin meyan kökü kuru ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Rizzato ve ark. 2017). Oral uygulamadan sonra glycyrrhizin bağırsak bakterileri tarafından 18-glisiretik asit 3-omonoglukuronid ve glycyrrhetic aside metabolize edilmektedir (Albermann ve ark. 2010).

G. glabra anti-inflamatuar aktivitesi sebebiyle inflamatuvar hastalıkların tedavisinde uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (Yang ve ark. 2017). Bir çalışmada dört hafta oral yolla bitkisel ekstrenin alımından sonra erkek sıçanlarda anti-inflamatuar etkinlik değerlendirilmiş, hayvanlarda total kolesterol ve trigliserit ve karaciğer enzim seviyelerinde önemli bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir (Shalaby ve ark. 2004). Ayrıca, *G. glabra*'nın üst solunum yolu ve sindirim sistemi hastalıklarının tedavisi üzerinde önemli olumlu etkilerinin olduğu da bildirilmiştir. Bu etkinin mide inflamasyonunun azalması ve serotonin ve prostaglandinlerin salgılanmasındaki artıştan kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Bahmani ve ark., 2014). Çeşitli çalışmalarda *G. glabra*'nın in-vitro antiinflamatuvar etkinliğinden bahsedilmiş, özellikle bitkinin bu etkinlikleri önemli komponentlerinden olan glisirizine atfedilmiştir (Rackova ve ark. 2007; Yin ve ark. 2017). Bunun yanında *G. glabra* bitkisi güçlü antiinflamatuvar etkisi nedeniyle böbrek ve karaciğer rahatsızlıkları için de tavsiye edilmekte, (Y. Xiao ve ark. (2010) karaciğer granülom oluşumunun inhibisyonunun inflamatuvar sitokin üretiminin glisirizin tarafından inhibe edilmesiyle gerçekleştiği bildirilmektedir (Y. Xiao ve ark., 2010).

Literatürde *G. glabra*'nın özellikle *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Bacillus subtilis* gibi Gram pozitif ve Gram

negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal özelliklerinin olduğu bildirilmiştir (Gupta ve ark. 2008, Wang ve ark. 2015). Bu antibakteriyel etkinliğin saponinler, alkaloidler ve flavonoidler gibi komponentlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Fukui ve ark. 1988, Wang ve ark. 2015). Özellikle *G. glabra*'dan izole edilen glabridin, glabrol, glabrene, hispaglabridin A, hispaglabridin B, metilglabridin ve hidroksiglabrol'un bu aktiviteden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark. 2015).

Bu etkinliğin mekanizmasının bakteriyel gen ekspresyonunu baskılanması, bakteriyel çoğalmanın inhibisyonu ve bakteriyel toksin üretiminin inhibe edilmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Gupta ve ark. 2008, Wang ve ark. 2015). Bir çalışmada meyan kökünün *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'un neden olduğu bakteriyel çürükleri önlediği bildirilmiştir (Ahn ve ark. 2014). Benzer şekilde yapılan in-vitro çalışmalarda meyan kökünün sulu ve etanolik ekstraktlarının *Streptococcus pyogenes* üzerinde antibakteriyel etkinliğinden bahsedilmektedir (Fukai ve ark. 2002a, 2002b, Wang ve ark. 2015). Bunun yanında meyan köküyle yapılan başka çalışmalarda da metisiline dirençli *S. aureus*'un önemli virülans genlerinden olan SaeR ve Hla'nın ekspresyonunu inhibe ederek MRSA'nın üzerinde etkili olduğu da bildirilmiştir (Fukai ve ark. 2002b, Wang ve ark. 2015).

Ayrıca bir başka çalışmada meyan kökünün en aktif bileşiklerinden biri olan Liquiritigenin, *S. aureus*'un α -hemolizin etkinliğini azalttığı, insan akciğer hücrelerinde (A549) α -hemolizin aracılı hasardan koruma kapasitesinin olduğu da gösterilmiştir (Wang ve ark. 2015). Alfa-hemolizin *S. aureus* enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli bir ekzotoksin olup endokarditten yüzeysel cilt enfeksiyonlarına, mortal seyreden pnömoniye kadar geniş bir hastalık yelpazesi ile ilişkilidir (Berube ve Bubeck 2013). Benzer şekilde, glabrin ve glycyrrhetic acid, *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliğinin olduğu da bildirilmiştir (Singh ve ark., 2015).

Ayrıca, *G. glabra*'nın *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı antibakteriyel etkisinin olduğu da bildirilmiştir (Gupta ve ark. 2008). Bu etkinlikten komponentlerinden biri olan glabridin'in sorumlu olduğu gösterilmiştir (Simmler ve ark. 2013).

Zengin farmakolojik etkinlikleresahip olan *G. glabra*'nın önceki çalışmalarımızda in-vitro *H. pylori* etkinliğini göstermiştik. Çalışmamızda *G. glabra*'nın en önemli komponentlerinden biri olan 18 β -glisiretinik asitin in-vitro olarak ilaç dirençli *H. pylori*

kökenlerine karşı yüksek etkinliğini göstermiştik (Çelik ve Duran 2019). Literatürde anti-*H. pylori* etkinliğinden bahseden çeşitli çalışmalara da rastlamak mümkündür (Krausse ve ark. 2004, Cao ve ark. 2016). Fakat literatürde bazı çalışmalarda özellikle *G. glabra*'nın bazı komponentlerinin *H. pylori* etkinliğine ilişkin tartışmalı raporlara da rastlamak mümkündür. Sözgelimi bir çalışmada glabridinin etkinliğinden bahsedilirken glisirizin'in yüksek dozlarda bile etkisinden söz edilemeyeceği bildirilmiştir. Glabridinin bu etkinliğinin ise mikroorganizmanın protein sentezi, DNA giraz ve dihidrofolat redüktaz inhbisyonu ilişkili olabileceği bildirilmiştir. (Asha ve ark. 2013, Fukai ve diğerleri, 2002a, 2002b). Dolayısıyla *G. glabra*'nın *H. pylori*'ye karşı in-vitro ve in-vivo etkinlikleri konusunda yapılacak çalışmaların, etkin komponentlerin veya mekanizmaların anlaşılması için çok değerli olduğu aşikardır.

2.3. Nükleer Faktör Kappa β

NF- κ B immün ve inflamatuvar yanıtların farklı süreçlerinde yer alan geniş bir gen dizisini düzenleyen, indüklenabilir transkripsiyon faktörleri ailesini temsil etmektedir (Oeckinghaus ve Ghosh 2009). Bu aile NF- κ B1 (p50), NF- κ B2 (p52), RelA (p65), RelB ve hedef genlerin transkripsiyonuna aracılık eden c-Rel dahil olmak üzere yapısal olarak ilişkili beş üyeden oluşur (Sun ve ark. 2013).

NF-KB immun süreçlerde kanonik ve kanonik olmayan 2 farklı ana yol ile aktive olur. (Sun 2011, Vallabhapurapu ve Karin 2009). Kanonik NF kb yolu çeşitli sitokin reseptör ligandları, patern tanıma reseptörleri, TNF reseptör superailesi gibi birçok faktör tarafından uyarılmaktadır. Kanonik NFkb yolunda ilk uyarılma mekanizma bölgeye göre aktif olan indüklenabilir kinaz kompleks (IKK) alfanın (IKBa)'nın bozunmasıdır (Oeckinghaus ve Ghosh 2009, Karin ve Delhase 2000). IKK IKKa, IKKb ve nfkb'nın modülatör alt ünitesi (NEMO)/ IKKgama'dan oluşur (Sun ve Ley 2008).

IKK sitokinler, büyüme faktörleri, mitojenler, mikrobiyal bileşenler ve stres ajanları dahil olmak üzere farklı uyaranlarla aktive edilebilmektedir (Israel 2010). İnflamasyon, vazodilataston, immün hücreler, plazma proteinlerinin rol oynadığı enfeksiyon veya doku yaralanması gibi durumlarda ortaya çıkan vücudun koruyucu bir cevabıdır (Zhang ve Sun 2015, Lawrence 2009).

Normalde inflamasyon koruyucu bir cevap iken inflamasyon cevabının bozulması doku hasarına neden olabilmektedir. Nf- κ B pro-inflamatuar sitokin salınımında önemli bir gen olup hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta önemli rol oynar. İnflamasomlar, PAMP'lere ve DAMP'lere yanıt olarak bir araya getirilen ve inflammatuar kaspazların aktivasyonu ile karakterize edilen bir hücre içi çoklu protein kompleksleri grubudur (Kumar ve ark. 2011).

İnflamasomlar, patojenik enfeksiyonlara karşı doğal bağışıklığın ayrılmaz bir parçasını oluşturur ve ayrıca bağırsak mikrobiyotasının bileşiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (de Zoete ve ark. 2014). NF- κ B sinyal yolu, inflammatuar hastalıkların başlamasına ve gelişmesine katkıda bulunan inflammatuar düzenlemede yer edinmektedir (Guo ve ark. 2015).

2.4. Tümör Nekrozis Faktör α

Tümör nekrozunu indükleyen bir serum faktörünün tanımlanmasından bu yana kırk yıl, TNF'nin klonlanması ve saflaştırılmasından bu yana 30 yıl ve TNF'i hedefleyen ilk ilacın onaylanmasından bu yana neredeyse 20 yıl geçmiştir (Aggarwal ve ark. 2012). TNF homeostaz ve hastalık patogeneğinde önemli işlevleri olan bir pleiotropik sitokindir. Yapılan son çalışmalar TNF aracılı hastalıklar için terapötiklerin geliştirilmesine yönelik yeni bilgiler sağlamıştır.

Kanser tedavisi için potansiyel bir hedef olarak TNF'in kullanımını, inflammatuar hastalıklar için bir ilaç hedefi olarak TNF izlemiştir (Feldmann ve ark. 2009, Cerami 2011).

Günümüzde TNF'yi hedefleyen beş biyolojik ajan, romatoid artrit (RA), inflammatuar bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı ve ülseratif kolit), sedef hastalığı, psoriatik artrit, ankilozan spondilit, juvenil idiyopatik artrit (JIA) ve en son olarak hidradenitis suppurativa tedavisi için onaylanmıştır (Monaco ve ark. 2015, Lee ve Eisen 2015). Özellikle, daha düşük maliyetli biyobenzer TNF inhibitörleri halihazırda geliştirilmiş ve klinikte kullanıma sunulmuştur (Dörner ve Kay 2015).

2.5. Interleukin 1 β

İnterleukin-1 (IL-1) ailesi en iyi karakterize edilmiş üyesi proinflamatuvar IL-1 β olmak üzere birkaç pro veya antiinflamatuvar proteinden oluşur. IL-1 β IL-1 reseptörü l'e bağlanarak ateş ve bağışıklık aktivasyonu ile sonuçlanan en belirgin inflamasyon araçlarından biridir. Etkisi nedeniyle salınımı sıkı bir kontrol altındadır. İlk olarak biyolojik olarak aktif olmayan proformun transkripsiyonu, TLR aktivasyonu, TNF veya IL-1 α veya IL-1 β tarafından IL-1 reseptör aktivasyonu ile indüklenir. IL-1 β 'nın salgılanması için ikinci uyarı olarak inflamatuvar aktivasyona gereksinim bulunmaktadır. İnflamasomlar aktivasyonu kaspaz-1 gibi inflamatuvar kaspazların olgunlaşmasıyla sonuçlanan sitozolik protein kompleksleridir. Kaspaz-1 daha sonra aktif olmayan pro-IL-1 β 'yi olgun formuna ayırmakta ve daha sonra salgılanmaktadır. IL-1 α ve IL-1 β pro-inflamatuvar sitokinler olarak kabul edilirken, IL-1Ra doğal olarak oluşan bir reseptör antagonisti olarak, IL-1 reseptör sinyalizasyonu üzerinde bir inhibitör görevi görmektedir.

IL-1 α ve IL-1 β daha sonra proteolitik olarak parçalanan öncü proteinler olarak sentezlenmektedir. IL-1 β 'nin aksine IL-1 α zaten biyolojik olarak aktiftir. Kalpainler gibi Ca⁺⁺bağımlı proteazlar IL-1 α 'yı parçalamakta, ancak bu parçalanmanın sebebi ve faydası hala tartışılmaktadır (Kobayashi ve ark. 1990).

IL-1 β çok daha iyi karakterize edilmiştir. IL-1 α ile birlikte inflamasyon sürecinde çok erken dönemde hücreden atılır, ilk olarak lokalize inflamasyonu ve nihayetinde sistemik inflamasyonu ve ateşi indüklemektedir. Hem IL-1 α hem de IL-1 β , IL-1R1'i ortak reseptörleri olarak paylaşır. IL-1 reseptör aktivasyonu ateşin indüklenmesinde önemli bir olaydır. Bir çalışmada sağlıklı insanlara intravenöz olarak birkaç nanogram IL-1 enjekte edildiğinde ateş, lökositoz ve hipotansiyon geliştiği bildirilmiştir (Dinarello ve ark. 1996).

Ancak son yıllarda IL-1 β 'nın sadece ateşe aracılık etmediği tümör anjiyogenezinde vasküler sistem, romatoid artrit ve osteoartrit ve hatta diyabette olduğu gibi birçok farklı organ sisteminde yer aldığı keşfedilmiştir (Larsen ve ark. 2007, Dinarello 2009, Kapoor 2011). Yüksek biyolojik gücü ve etkinliği nedeniyle, hem IL-1 α hem de IL-1 β 'nın transkripsiyonu, sentezi ve salgılanması sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Özellikle keratinositler gibi yerleşik hücrelerde IL-1 α ve IL-1 β hem cDNA'da hem de başlangıç protein seviyesinde bulunurken, her iki sitokin de makrofajlar, monositler ve dendritik

hücreler gibi miyeloid hücrelerde transkripsiyonel olarak indüklenmesi gerekmektedir (Feldmeyer ve ark. 2007, 2010).

IL-1a hücrede tamamen biyoaktif bir biçimde bulunduğundan, nekrotik hücre ölümü, alarmin görevi gören tam uzunluktaki IL-1a'nın serbest kalmasıyla sonuçlanır (Chen ve ark. 2007). S100A proteinleri veya hmgb1 gibi alarminler, hücre zarının bozulmasından sonra inflamasyonu indüklemek için hücreden salınan önceden oluşturulmuş proteinlerdir. IL-1 β aktif olması için işlenmesi gerektiğinden bir alarmin görevi göremez. Thornberry ve ark. 1992 yılında kaspaz-1'i interleukin-1 dönüştürücü enzim olarak tanımlamıştır (Thornberry ve ark. 1992).

IL-1 aktivasyonunun ve kaspaz-1 aktivasyonunun kesin mekanizması 10 yıl sonra aydınlatılmıştır. Fabio Martinon ve Jurg Tschopp, inflamatuvar kaspazların aktivasyonundan sorumlu sitozolik protein kompleksleri olarak inflamatuvarları tanıtmıştır (Martinon ve ark. 2002).

Bu kaspazlar bir kez aktive edildikten sonra IL-1 β ve IL-18'i parçalayabilir ve IL-1 α , IL-1 β ve ayrıca IL-18'i doğal bağışıklığın pro-inflamatuvar araçları olarak serbest bırakabilir.

IL-1 β gen polimorfizmleri gastrik kanser ile yakından ilişkili olup IL-1 β inflamatuvar yanıt ve gastrik asit salgılanması dahil olmak üzere çeşitli hücresel aktivitelerde yer almaktadır (Jayaraman ve ark. 2013, Waghay ve ark. 2010). IL-1 β 'nın deregülasyonu birçok kanser tipinde tespit edilmiştir. IL-1 β gen polimorfizmlerinin mide tümörigenezi ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (El-Omar 2003).

2.6. Siklooksijenaz 2

Prostaglandin endoperoksit sentaz olarak da bilinen siklooksijenaz (COX) araşidonik asidin prostaglandinlere dönüştürülmesi için gerekli olan anahtar enzimdir. COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki COX izoformu tanımlanmıştır. Çoğu zaman COX-1 enzimi mide mukozası gibi alanlarda yapısal olarak üretilirken, COX-2 enzimi ise inflamasyon ve kanserli dokularda indüklenmektedir. NSAID'ler her iki enzimi de inhibe etmektedirler.

Bilinen iki COX izoformu, keşfedilme sırasına göre COX-1 ve COX-2 olarak adlandırılmıştır. COX aktivitesini inhibe ederek aktivite gösteren aspirin 100 yılı aşkın bir süredir yaygın olarak kullanılmaktadır. Aslında salisilatlar veya öncüllerini içeren söğüt kabuğu ve mersin özleri yüzyıllardır ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak Geleneksel tıpta kullanılmıştır. COX enzimlerinin biyolojik ve hastalıklardaki rolüne ilişkin çalışmalar 1970’li yıllardan sonralaki dönemlerde yapılmaya başlanmıştır. Geçen yüzyılda nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların yaygın olarak kullanılmasına rağmen bunların etki mekanizmaları, NSAID’lerin inflamasyonu baskılama yeteneklerinin COX enzimini inhibe etme yeteneklerinden kaynaklandığının anlaşılmasına kadar tam olarak anlaşılamamıştır (Vane 2014).

Bu keşfin ardından normal fizyoloji ve hastalıklarda hem COX enzimlerinin hem de bu yoldan türetilen eikosanoidlerin kritik rolünü incelemek için NSAID’ler kullanılmaya başlanmıştır. COX enziminin inhibisyonunun çok düşük konsantrasyonlarda (nanomolar veya mikromolar düzeyde) ilaç varlığında dahi gerçekleşebildiği önemlidir.

Gastrointestinal epitel dokular çok sayıda enfeksiyöz ve parazitik organizmanın hedefidir. Enfeksiyona veya kolonizasyona yanıt olarak epitel hücrelerinde COX-2 ekspresyonu indüklenmekte ve bu da Prostaglandin üretiminin artmasına neden olmaktadır (Eckmann ve ark. 1997).

PG’lerin bakterileri bağırsaktan temizleyen mukozadan klorür ve sıvı salgılanmasını uyardığı bilinmektedir. Ayrıca, COX-2 inflamasyon ve yara iyileşmesi sırasında eksprese edilmekte olup çalışmalarda hayvanlarda COX-2 inhibitörleri ile tedavinin inflamasyonu şiddetlendirebileceği ve iyileşmeyi inhibe edebileceği bildirilmektedir (Brzozowski ve ark. 2000).

Çalışmalarda insanlar ve kolorektal tümörlerinin çoğunda yüksek seviyelerde COX-2 ekspresyonun olduğunu göstermiştir. Hücre kültürü modellerindeki COX-2 ekspresyonunun, hücre dışı matrikse yapışmayı artırarak ve hücreleri apoptoza dirençli hale getirerek epitel hücrelerinin tümöröjenik potansiyeline önemli ölçüde katkıda bulunduğu gösterilmiştir. (Williams ve ark. 2000).

2.7. Forkhead BOX M1

FOX M1'in kanser oluumu ve gelişiminde çok önemli rolünün olduğu bildirilmiştir (Hanahan ve Weinberg 2011). FOX M1'in insan kanserlerinin çoğunda fonksiyonel rolü olup inhibisyonunun kanser gelişimi üzerinde önemli etkisi bildirilmiştir (Halasi ve Gartel 2013).

Mide kanseri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Hastaların çoğunda tanı konulduktan sonra uzak doku metastazları görülmekte ve ileri evrelerde 5 yıllık sağkalım oranının %20'den az olduğu bildirilmektedir. Yüksek FOX M1 ekspresyonunun mide kanserli hastaların ortalama sağkalım süresinin azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. FOX M1 aşırı ekspresyonunun ADAM-17 ekspresyonunda bir artışla sonuçlandığı, buna karşın primer insan mide kanseri hücrelerinde FOX M1 susturulmasının ardından transkripsiyonunun azaldığı bildirilmiştir (Fang ve ark. 2017). FOX M1'in aşırı ekspresyonunun tümör gelişimi ve lenf nodu ve uzak doku metastazları ile ilişkili olabildiği bildirilmektedir (Zhang ve ark. 2016).

ADAM-17, tümörlerde büyüme faktörlerini, sitokinleri ve integrinleri aktive etmektedir. FOX M1'in lizozomal bölmelerdeki proteinleri parçalayan bir proteinaz olan Katepsin D olarak adlandırılan yeni bir hedefin aktivasyonu yoluyla mide kanseri hücre göçü ve istilasına dahil olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, Katepsin D malign hücrelerin epitelyal-mezenkimal geçişine yol açan E-kadherinin de aşağı regüle eder. Araştırmacılar, FOX M1 aşırı ekspresyonunun, katepsin D ekspresyonunun yanı sıra mide kanserinde hücre göçü ve istilasını arttırdığını, FOX M1 baskılanmasının ise Katepsin D ekspresyonunda bir azalmaya yol açtığını bulmuşlardır. Ayrıca FOX M1, Katepsin D promotörüne bağlanır ve transkripsiyonunu yukarı regüle eder (Yang ve ark. 2017).

2.8. Interleukin 6

Sitokinler, otokrin, parakrin ve endokrin sinyalleşmesinde önemli olan küçük (15-20 kDa) ve kısa ömürlü proteinlerdir. Sitokinler bağışıklık sisteminin gelişimini ve aktivasyonunu koordine etmektedir (Gandhi ve ark. 2016).

IL-6 ailesi sitokinleri B-hücreleri stimülasyonu ve hepatik akut faz proteinlerinin indüksiyonu dahil olmak üzere birçok fonksiyonda yer almaktadır. Ayrıca, bu sitokin grubuna metabolik fonksiyonlar ve nörotrofik fonksiyonlar da atfedilmektedir. Enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları gibi çevresel stres faktörlerine yanıt olarak IL-6 ani ve geçici olarak eksprese edilir. Bu ifade bir alarm sinyalini tetiklemekte ve strese karşı konak savunma mekanizmalarını harekete geçirmektedir (Naka ve ark. 1997). Bununla birlikte bazı hücrelerde çoğunlukla bilinmeyen etiyolojiye sahip düzensiz ve kalıcı IL-6 üretimi, çeşitli hastalıkların gelişmesine yol açabilmektedir. IL-6'nın hastalık gelişimi ile ilişkisi ilk olarak bir kardiyak miksuma vakasında gösterilmiştir. Ateş, antinökleer faktör pozitif poliartrit, yüksek CRP düzeyi ve hipergamaglobulinemi ile başvuran bir hastanın miksuma dokularından elde edilen sıvının yüksek miktarda IL-6 içerdiği tespit edilmiş ve bu da IL-6'nın inflamasyon ve otoimmünite kaynaklı kronik hastalıklara katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür (Hirano ve ark. 1987).

Daha sonraki çalışmalarda IL-6 üretiminin düzensizliğinin romatoid artritli hastaların sinovyal hücrelerinde, Castleman hastalığına sahip hastaların şişmiş lenf düğümlerinde, miyelom hücrelerinde ve periferik kan hücrelerinde veya çeşitli diğer otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalıklarda ve hatta kanserlerde malign hücrelerde ilgili dokularda meydana geldiği gösterilmiştir (Nishimoto ve ark. 2005).

IL-6'nın hastalık gelişimindeki patolojik rolü birçok hayvan hastalık modellerinde gösterilmiştir (Katsume ve ark. 2002). IL-6'nın romatoid artrit (Fujimoto ve ark. 2008), sistemik lupus eritematozus (Mihara ve ark. 1998), sistemik skleroz (Kitaba ve ark. 2012), miyopatiler (Okiyama ve ark. 2009), deneysel otoimmün üveoretinit (Haruta ve ark. 2011), deneysel otoimmün ensefalomyelit (Serada ve ark. 2008) ve diğer birçok hastalık modelinde rolü olduğu gösterilmiştir.

2.9. Interleukin 8

Kemokinler kemotaktik sitokinlerdir ve IL-8 prototipik kemokindir. Kemokin adından da anlaşılacağı gibi IL-8, hücrelerin bir inflamasyon bölgesine yönlendirilmiş göçü olan kemotaksisi indüklemekten sorumludur. IL-8 (diğer ismi CXCL8) monosit türevli

nötrofil kemotaktik faktörü ve nötrofil aktive edici peptiddir. IL-8, vücuttaki neredeyse tüm çekirdekli hücreler dahil olmak üzere çok çeşitli hücre tipleri tarafından üretilir. Bununla birlikte bu hücreler arasında monositler ve makrofajlar tipik olarak başlıca hücresel kaynağı oluşturmaktadır. Lipopolisakkaritler, canlı bakteriler, TNF ve IL-1 gibi diğer erken proinflatuar sitokinler dahil olmak üzere çoklu uyaranlar IL-8 salgılanmasını indüklemektedir (Standiford ve ark. 1990).

IL-8, akut inflammatuar yanıtın düzenlenmesinde önemlidir. Akut inflammatuar hücreleri toplama ve aktive etme işlevini yerine getireceği lokal inflamasyon bölgelerinde hızla sentezlenir. IL-8'in olgun tamamen işlenmiş formu yalnızca 72 amino aside sahip olan küçük bir proteindir. Sıcaklık ve proteolize karşı dirençlidir ve asidik ortamlara nispeten dayanıklıdır. Bu biyokimyasal özellikleri onu optimal olmayan koşullara dayanabilen ideal bir aday molekül yapar. IL-8'in bir diğer önemi akut inflamasyon bölgelerinde görece uzun ömürlü olmasıdır. Pnömoni veya peritonit gibi bir bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede inflammatuar hücrelerin alımına devam etmek için birkaç gün boyunca bulunabilir.

Mide mukozasında IL-8'in yüksek ekspresyon seviyeleri ile mide kanseri riski arasında önemli bir korelasyon bildirilmiştir (Yamada ve ark. 2013).

Bir çalışmada IL-8'in serum seviyelerinin mide kanserinin belirteçlerinden olabileceği bildirilmiştir (Macri ve ark. 2006). Mide kanseri hastalarından alınan doku ekstraktlarında IL-8 mRNA'nın artan ekspresyonu kötü prognoz dahil olmak üzere hastalığın bazı patolojik yönleriyle ilişkilendirilmiştir (Lee ve ark. 2004). Transgenik farelerde IL-8 ekspresyonun tümörojenezi arttırdığı bildirilmiştir, bu da IL-8'in gastrointestinal kanserlerde çok önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir (Asfaha ve ark. 2013).

Yüksek IL-8 seviyelerinin kötü prognoz ile ilişkili olabileceği ve IL-8'in daha agresif mide kanserlerinin göstergesi olabileceğini bildirilmiştir. İnvazyon ve anjiyogenez metastatik sürece dahil olduğundan, mide kanserinde IL-8 ekspresyonu kanser hücrelerinin metastatik yeteneklerini etkileyebilir. İnsan mide karsinomlarında IL-8'in yukarı regülasyonu, anjiyogenez ile yakından ilişkilidir (Beales ve ark. 1997).

Bir çalışmada IL-8 ekspresyonunun insan mide karsinomlarının vaskülaritesi ile doğrudan ilişkili olduğu ve IL-8 ile transfekte edilmiş hücrelerin, kontrol hücrelerine kıyasla

hızla çoğalan, yüksek oranda vasküler neoplazmalar ürettiği bildirilmiştir (Kitadai ve ark. 1998). Buna karşılık IL-8'in inhibisyonu mide kanserinde anjiyogenezi azalttığı bildirilmiştir (Wang S ve ark. 2013).

Mide kanserlerinin çoğu, inflamatuvar bir sürecin son ürünleridir. Kronik *H. pylori* enfeksiyonu mide mukozasının inflamasyonu ile karakterize olup kronik gastritin ana nedeni olarak kabul edilmektedir. Mide epitel hücrelerinde IL-8 indüksiyonu cagA geni ile açıkça ilişkilendirilmiştir. CagA eksprese eden *H. pylori* suşlarında sitokin ekspresyonu in-vivo olarak yüksek bir inflamatuvar yanıtla bağlantılıdır. CagA proteini *H. pylori*'nin majör virülans faktörüdür, *H. pylori* ile ilişkili gastritin bir belirteci ve mide kanseri riskini arttıran faktördür (Blaser ve Atherton 2004). Mide epitel hücrelerinde *H. pylori* enfeksiyonunun in-vitro çalışmaları IL-8 salgılanması için cagA hariç, cagPAI tarafından kodlanan proteinlerin gerekliliğini ve NF- κ B yolu tarafından IL-8 indüksiyonunun düzenlenmesi gerektiğini ortaya çıkarmıştır (Nomura ve ark. 2002).

2.10. Interleukin 10

İnterleukin-10 sitokin ailesi konak savunması sırasında immün yanıtların düzenlenmesinde, otoimmün, inflamatuvar ve kanser gibi hastalıkların patogenezinde önemli roller oynamaktadır. IL-10 esas olarak lökositler üzerinde etkili olmasına ve güçlü immünosupresif fonksiyonlara sahip olmasına rağmen ailenin diğer üyelerinin viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonları kontrol etmede, doku onarımını ve rejenerasyonu tetiklemede ve doku bütünlüğünü korumada çeşitli fonksiyonlarına sahip doğal savunma mekanizmaları olarak görev yapan doku epitel hücreleri gibi nonimmün hücreleri hedefler. IL-10 T yardımcı 2 (Th 2) T-hücre klonları tarafından üretilen ve Th 1 sitokinlerinin üretimini inhibe etme kabiliyetine sahip olan bir sitokin sentezi inhibitör faktörü olarak tanımlandığı bildirilse de günümüzde IL-10'un, makrofajlar, monositler, dendritik hücreler, mast hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, NK hücreleri, CD4+ ve CD8+ T hücreleri ve B hücreleri gibi bağışıklık sisteminin hem doğal hem de adaptif kollarının çok çeşitli hücre tipleri tarafından eksprese edildiği bilinmektedir (Ouyang ve ark.2011).

IL-10, birçok kanser türünde tümör mikroçevresinde tespit edilmekte olup kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (Mannino ve ark. 2015). Güçlü immünosupresif işlevlerine

dayanarak, özellikle IL-12 üretimini ve Th1 farklılaşmasını inhibe etmede IL-10, kanser immünoterapisi için bir hedef olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte IL-10'un hem tümör teşvik edici hem de tümör baskılayıcı işlevlerinin olduğuna ilişkin çalışmalar mevcuttur (Groux ve ark. 1998).

Bir yandan IL-10 kanser hücrelerinde ve profesyonel Antijen sunucu hücrelerde MHC ekspresyonunu aşağı regüle ederek sitotoksik T-hücresi aktivasyonunu bastırmakta, böylece kanser hücrelerinin antijene özgü T hücreleri tarafından tanınmasını önlemekte, diğer yandan Th1 farklılaşmasını ve sitotoksisiteyi güçlü bir şekilde destekleyen bir sitokin olan IL-12'nin APC'lerden üretimini de inhibe etmektedir. Diğer yandan yüksek dozlarda IL-10, CD8+ T hücrelerinin proliferasyonunu ve sitotoksik aktivitelerini arttırmaktadır (Groux ve ark.1998, Mumm ve ark. 2011).

Belirli inflamatuvar sitokinler ve koşullar doku hasarını ve onkogenezi teşvik edebilmektedir. (Huang ve ark. 2006). IL-10 bu tür inflamatuvar reaksiyonları baskılayarak onkogenezi önleyebilmektedir. Bu nedenle, spesifik kanser türleri ve hasta alt popülasyonlarında vaka bazında IL-10 yolunu inhibe ederek veya teşvik ederek potansiyel bir terapötik müdahaleyi değerlendirmek önem taşımaktadır.

2.11. Interleukin 33

İnterleukin-33 (IL-33) hem homeostaz hem de inflamasyon sırasında endotel hücrelerinde, epitel hücrelerinde ve fibroblast benzeri hücrelerde bol miktarda eksprese edilen IL-1 ailesinden doku kaynaklı olan bir nükleer sitokindir. Bağışıklık hücrelerini uyarmak için hücre hasarı veya doku hasarı üzerine salınan bir alarmin olarak işlev yapmaktadır. IL-33'ün in-vivo başlıca hedeflerinin, mast hücreleri, grup 2 doğal lenfoid hücreler (ILC2'ler) ve düzenleyici T hücreleri (Treg'ler) gibi dokuda yerleşik bağışıklık hücreleri olduğu bildirilmiştir. Diğer hedefler arasında Th2 hücreleri, eozinofiller, bazofiller, dendritik hücreler, Th1 hücreleri, CD8+ T hücreleri, NK hücreleri, B hücreleri, nötrofiller ve makrofajlar yer almaktadır. IL-33 tip-2, tip-1 ve düzenleyici bağışıklık tepkilerinde pleiotropik aktivitelere ve alerjik, fibrotik, bulaşıcı ve kronik inflamatuvar hastalıklarda önemli rollere sahip immun modülatördür.

Mukoza, deri, genital, solunum ve sindirim yollarındaki epitel hücreler IL-33'ün başlıca kaynaklarını oluşturmaktadır (Sundnes ve ark. 2015). Sindirim sisteminde IL-33 midenin mukozal yüzeyinden ve mide bezlerindeki gelen epitel hücreleri tarafından eksprese edilmektedir (Pichery ve ark. 2012).

IL-33'ün indüklenebilir ve heterojen ekspresyonu, sırasıyla kolit ve bağırsak polipozisi sırasında kolon ve bağırsak epitel hücrelerinde de görülmüştür (Maywald ve ark. 2015).

İnsan kolorektal kanserinde IL33 mRNA seviyesi artmakta ve tümör epitel hücrelerinde IL-33 protein ekspresyonu indüklenmektedir. Bir çalışmada IL-33 ayrıca fare bağırsak tümörlerinde üretildiği ve eksikliğinde bağırsak tümörigenezinde polipozisi azalttığı bildirilmiştir (Maywald ve ark. 2015). Tümör oluşumunda, IL-33 muhtemelen mast hücrelerinin birikimini ve pro-tümörijenik bir mikro-ortamın oluşumunu artırarak etki etmektedir. IL-33'ün neden olduğu sinyalizasyonun miyeloproliferatif neoplazmaların patogeneğinde çok önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Mager ve ark. 2015).

Miyeloproliferatif neoplazmalı hastalardan alınan kemik iliği biyopsilerinde endotel hücrelerinde nükleer IL-33 seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. IL-33 miyelopoezi destekleyen sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretimini indüklemiş ve stromal hücre kaynaklı IL-33'ün, fare modellerinde hastalığın gelişimi için çok önemli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, IL-33-ST2 sinyalinin kronik miyeloid lösemili hastalardan alınan CD34+ progenitörlerinin çoğalmasına yol açtığı bildirilmiştir (Levescot ve ark. 2014).

Bu nedenle IL-33'ün bir pro-tümörijenik sitokin olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, IL-33'ün NK hücreleri ve CD8⁺ T hücreleri gibi antitümör bağışıklığında yer alan hücrelerin aktivasyonu tetikleyebileceği de bildirilmiştir. IL-33'ün kanserdeki rolünü netleştirmek için daha fazla çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında 09/07/2020-25/10/2021 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmamız Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 20.D.011 nolu proje olarak desteklendi. Hayvan Deneyleri için gerekli izin Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 24/06/2020 tarih ve 2020/04-10 sayılı (18/03/2022 tarihli 2022/03-08 sayılı karar ile isim değişikliğine gidilmiştir) karar ile alındı. Çalışmada kullanılan Glycyrrhetic asit kullanıma hazır ticari olarak elde edilirken *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus casei* suşları kültür koleksiyonumuzdan kullanıldı. Çalışmada bileşiklerin tekli ve farklı kombinasyonları kullanıldı. Sitotoksite deneyleri Vero (Afrika yeşil maymun böbrek hücre hattı) hücre hattında, in-vitro aktivite testleri ise AGS (Gastrik adenokarsinom hücre hattı) hücre hattında gerçekleştirildi. İn-vitro testlerin tamamlanmasını takiben ise *H. pylori* ile oluşturulan sıçan gastrit modelinde bileşiklerin ve kombinasyonlarının *H. pylori* ile oluşturulmuş enfeksiyon modelinde tedavi başarısı kontrol gruplarıyla kıyaslamalı olarak değerlendirildi.

3.1. Araç ve Gereçler

- Karbondioksitli İnkübatör (Heal Force HF90, Çin)
- Düz Tabanlı Mikroplaklar (12, 24, 48 ve 96'lık) (TPP, Europe/Switzerland)
- Klas II Güvenlik Kabini (Heal Force, Çin)
- Bidistile Su Cihazı (Elix Essential 10 UV, Almanya)
- İnverted Mikroskop (Soif, Çin)
- Santrifüj (NF 048; Nüve, Türkiye)
- Hassas Terazî (Ohaus Corp., NJ ABD)
- Thoma lam (Isolab, Almanya)
- Otomatik Pipetler (Discovery, Transferpette, Almanya)
- Benmari (Gesellschaft Für Labortechnik, Almanya)
- Buzdolabı (Indesit TN 5 FNF-İtalya)
- Otoklav (Nuve OT 90L, Almanya)

3.2. Kimyasal maddeler ve Suşlar

- RPMI-1640 Besiyeri (Sigma, ABD)
- DMEM besiyeri (Sigma, ABD)
- Fetal Bovine Serum (Capricorn Scientific, Güney Amerika)
- Tripsin Enzimi (Biological Industries, İsrail)
- Dimetil Sülfoksit (Merck Kgaa, Almanya)
- Brucella Agar (Biomeurieux, Fransa)
- Kanlı Agar (Biomeurieux, Fransa)
- Triptic Soy Broth (Biomeurieux, Fransa)
- *Helicobacter pylori* (NTCC 11637)
- *Streptococcus thermophilus* (RSKK 731)
- *Lactobacillus casei* (RSKK 4080)
- Glycyrrhetic asit (Sigma, ABD)
- Fosfat Tuz Solüsyonu (PBS)
- Etil Alkol (Merck, Almanya)
- Tripan Mavisi (Sigma, ABD)
- GAS PAK (Biomeurieux, Fransa)

3.3. *Helicobacter pylori* Kültürü

Helicobacter pylori suşu (NTCC 11637) Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Refik Saydam Ulusal Tip Kültür Koleksiyonu Laboratuvarından temin edilmiştir. Liyofilize olarak tedarik edilen suş %5 fetal dana serumu içeren Brucella Broth' içerisine alınarak mikroaerofilik koşullarda 5 gün süre ile inkübe edildi. Brucella broth besiyerinde çoğaltılan bakterilerin %5 koyun kanlı agara pasajları yapılarak, plaklar mikroaerofilik ortamda (gas pak kit) 7 güne kadar 37 °C'de inkube edildi. İnkubasyon sonunda suşlar Gram boyama, üreaz, katalaz ve oksidaz testleri gibi konvansiyonel teknikler kullanılarak tür doğrulaması yapıldı. Kökenlerin hem in-vitro hem de in-vivo deneyler için pasajları yapılarak idame ettirildi (Cover 2012).



Şekil 3.1. %5 Koyun Kanlı Agarda *H. pylori* kolonileri

3.4. Solüsyon ve Bileşiklerinin Hazırlanması

3.4.1. RPMI-1640 Besiyeri

Besiyeri ticari olarak toz olarak temin edilmiştir. Laboratuvarıda 2 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) 1 lt besiyeri için hazır paket halindeki toz besiyerine eklendi ve 1 lt distile su ile erlenmayer içinde karıştırıldı. Homojenize olması için erlenmayerin ağzı kapatılıp karıştırıcıda 30 dakika kadar karıştırıldı. Homojen hale gelen karışımın filtrasyon yöntemiyle sterilizasyonu gerçekleştirildi.

3.4.2. Tripsin Solüsyonunun Hazırlanması

Bidistile su ile son hacim 1 litre olacak şekilde ayarlanmak üzere 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 2.37 g Na₂HPO₄ 12 H₂O, 0.2 gr KH₂PO₄, 1 gr titriplex III (Versen) ve 1.25 gr tripsin tartılarak erlenmayer içinde karıştırıldı. Erlenmayerin ağzı kapatılarak karıştırıcıda 30 dk. karıştırılıp homojenize edildi. Homojen hale gelen karışımın filtrasyon yöntemiyle sterilizasyonu gerçekleştirildi.

3.4.3. PBS hazırlanması

Bidistile su ile son hacim 1 litre olacak şekilde 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 2.37 g. Na₂HPO₄ 12 H₂O ve 0.2 g KH₂PO₄ tartılarak erlenmayer içinde çözüldü. Erlenmayerin ağzı kapatılarak karıştırıcıda 30 dakika karıştırılarak homojenize edildi ve 121 °C 1 atm basınç altında 15 dakika tutularak otoklavda sterilize edildi.

3.4.4. Biyoaktif Metabolitler

S. thermophilus, *L. casei* kökenleri -80 °C'den alınarak çözüldü. Sonra %5 koyun kanlı agara pasajları yapılarak 37 °C'de 48 saat süre ile inkübe edildi. Tür tanımlamaları yapıldıktan sonra Tryptic soy broth'a inoküle edilerek aynı şartlarda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda hücresiz metabolitleri filtrasyon yöntemiyle sterilize edildi.

3.4.5. Glycyrrhetic Asit

Ticari olarak temin edilen (Sigma, ABD) Glycyrrhetic asitin çözülmesi için solvent olarak dimetil sülfoksit (DMSO, Sigma, ABD) kullanıldı. Glycyrrhetic asitin stok solüsyonu 100 µg/ml olacak şekilde hazırlandı.

3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.5.1. Sitotoksite Testleri

Sitotoksite çalışmalarında hücre hattı olarak Vero (Afrika yeşil maymun hücre hattı) hücre hattı kullanıldı. Öncelikle bileşiklerin ve farklı kombiyasyonların sağlıklı hücre hatlarında toksik olmayan konsantrasyonlarının belirlenmesi Vero hücre hattında gerçekleştirildi. Kültür çalışmalarında Vero hücre hattı için üretme besiyeri olarak içerisinde 10 mM HEPES, %10 oranında fetal dana serumu (FBS), 4mM glutamin ve 100 IU/ml penisilin/streptomisin içeren RPMI-1640 hücre üretme besiyeri kullanıldı.

Hücre kültürlerinin idame ettirilmesinde hücrelerin inkübasyonu kültür kabı yüzeyini kaplayıncaya kadar devam ettirildi. Hücrelerin çoğaltılması sırasında besiyerlerinin pH'ında asitlik tespit edildiğinde kültür besiyeri değiştirildi. Kültür kabı yüzeyini kaplayan hücreler kültür kabı yüzeyinden %0.25'lik Versen-Tripsin solüsyonu ile kaldırılarak santrifüj tüplerine alındı. Tüpler soğutmalı santrifüjde 1500 rpm'de 15 dk. santrifüj edilerek toplandı. Hücre canlılığı ve sayısı hemositometre ile tripan mavisi boyama yöntemi ile belirlendi.

Aktivite deneyleri 24, 48 ve 96 kuyucuklu düz tabanlı mikropiplaklarda yapıldı. Kuyucuklara içerisinde %10 oranında fetal dana serumu bulunan RPMI 1640 besiyeri ile ml'sinde 1×10^6 hücre olacak şekilde hücre inoküle edildi. Çalışmada Glycyrrhetic asiti çözmek için kullanılan DMSO'nun (Sigma, MI, ABD) seçilen konsantrasyonları negatif kontrol olarak kullanıldı. DMSO'nun non-toksik konsantrasyonlarının belirlenmesi testleri Vero hücre hattı kullanılarak gerçekleştirildi. Vero hücreleri 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde mikropiplaklara inoküle edildi. Mikropiplakların kuyucuklarına DMSO'nun değişik konsantrasyonları (%8, 4, 2, 1 ve 0.5) üzerinde non-toksik konsantrasyon belirlenerek toksik olmayan bu konsantrasyon solvent olarak seçildi.

Çalışmada Glycyrrhetic asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin biyoaktif metabolitleri ile muamele edilen Vero hücre kültürlerinde sitotoksik dozlar MTT yöntemiyle belirlendi.

Negatif ve pozitif kontroller de MTT yönteminde birlikte çalışılarak kıyaslandı. Hücre kültürlerine bileşikler ve kombiyasyonları eklendikten sonra 96 saat 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı. Sonra her kuyucuğa 10 µl MTT eklendi ve pleytler 4 saat için aynı şartlar altında inkübe edilerek absorbans ölçümleri spektrofotometre 570 nm

de yapıldı. Proliferasyon fitokimyasallarla muamele edilen kuyucuklardaki hücrelerin kontrol grubu hücrelerine oranı olarak ifade edildi.

Çizelge 3.1: Sitotoksite çalışmaları deney grupları ve tekrar sayıları

Deney grupları	Tekrar sayısı
Grup 1 (<i>Streptococcus thermophilus</i> ; ST)	3
Grup 2 (Glycyrrhetic asit; GA)	3
Grup 3 (<i>Lactobacillus casei</i> ; LC)	3
Grup 4 (Amoksisilin)	3
Grup 5 (Klaritromisin)	3
Grup 6 (GA+AB)	3
Grup 7 (ST+AB)	3
Grup 8 (LC+AB)	3
Grup 9 (ST+GA)	3
Grup 10 (ST+LC)	3
Grup 11 (GA+LC)	3
Grup 12 (ST+GA+AB)	3
Grup 13 (LC+GA+AB)	3
Grup 14 (ST+LC+AB)	3
Grup 15 (ST+LC+GA)	3
Grup 16 (ST+LC+GA+AB)	3

3.5.2. Tripan Mavisi ile Hücre Canlılığının Belirlenmesi

Hücre canlılığı tripan mavisi boyama yöntemi ile tespit edildi. Bu yöntemin temel prensibi membran bütünlüğü bozulmuş olan ölü hücrelerin tripan mavisi ile boyanması ve boyama sonunda canlı hücrelerin boyasız ölü hücrelerin ise maviye boyanmış olarak görülmesidir. %1'lik tripan mavisi boyası PBS çözeltisi içinde hazırlandı. %0.25'lik Versen-Tripsin solüsyonu ile toplanan hücreler 1:1 oranında tripan mavisi ve hücre süspansiyonu olacak şekilde boyandı. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilen karışım mikroskopta incelenerek canlılık tespiti yapıldı. Hemositometre (Thoma lamı) ile hücre sayımı gerçekleştirildi.

3.5.3. MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Yöntemi

Bu yöntemde kùltive edilen canlı hücreler kolorimetrik olarak tespit edilebilmektedir. Burada temel prensip sağlam hücrelerdeki mitokondrianın MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ilkesine dayanmaktadır (McGahon ve ark. 1995). İlk olarak Mosmann tarafından uygulanan ve daha sonra Alley ve arkadaşları (1988) tarafından geliştirilen 3-(4,5-dimetil tiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) yöntemi, hücre canlılığının tayini için sıkça kullanılan bir yöntemdir. MTT, hücre içerisine giren ve mitokondriye bağılı bir reaksiyon ile renkli, suda çözünmeyen formazana dönüşen bir maddedir (Mosmann ve ark. 1983). Hücrelerin MTT'yi indirgeme özelliğı hücre canlılığının göstergesi olarak kabul edilir ve MTT analizi sonucunda ortaya çıkan boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile pozitif korelasyon göstermektedir.

3.5.4. AGS Hücre Hattının *H. pylori* ile Enfekte Edilmesi ve Deney Gruplarının Oluşturulması

AGS hücrelerinin kùltivasyonu için 4 mM L-glutamin, %10 oranında fetal dana serumu (FBS) ve 100 IU/ml penisilin/streptomisin içeren DMEM besiyeri kullanıldı. Bileşiklerin anti-*H. pylori* etkinlikleri gen ekspresyon çalışmaları için antibiyotik içermeyen üretme besiyeri kullanıldı. Üç bileşik ve bu bileşiklerin farklı kombinasyonları ile antibiyotik tedavi gruplarının NF-κB, IL-1B, TNF-a, Fox-M1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-33 genleri ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkinlikleri aşağıdaki tedavi grupları oluşturarak değerlendirildi. Deneylerde *H. pylori* ile enfekte edilen AGS hücreleri kontrol grubu olarak seçildi. Aşağıda belirtildiğı gibi tedavi grupları oluşturulduktan sonra bileşikler ve kombinasyonları non-toksik konsantrasyondaki tedavi dozları uygulanarak genlerin ekspresyonları üzerindeki etkinlikleri değerlendirildi. Hücre hatlarının inkubasyonu 37 °C ve %5 CO₂ ortamda gerçekleştirildi. Hücre çoğaltma ve üretme deneylerinde hücre yoğunluğu 1x10⁶ hücre/ml, aktivite çalışmaları için ise hücre konsantrasyonu 1x10⁵ hücre/ml olacak şekilde ayarlandı.

Çizelge 3.2. Gen ekspresyon çalışması deney grupları ve tekrar sayıları.

Deney grupları	Tekrar sayısı
Grup 1 (<i>H. Pylori</i> kontrol grubu)	3
Grup 2 (ST grubu)	3
Grup 3 (GA grubu)	3
Grup 4 (LC grubu)	3
Grup 5 (Antibiyotik grubu (Amoksisilin+Klaritromisin; AMC+KL))	3
Grup 6 (ST+GA)	3
Grup 7 (ST+LC)	3
Grup 8 (GA+LC)	3
Grup 9 (GA+AB)	3
Grup 10 (ST+LC+AB)	3
Grup 11 (ST+GA+LC)	3
Grup 12 (ST+GA+LC+AB)	3

3.6. Gen Ekspresyon Çalışmaları

3.6.1. RNA izolasyonu

İn-vitro deneylerde bileşiklerin hücre kültürlerindeki bakteriyle muamelesi sonunda hücreler kültür kaplarından toplandı. Sonra örneklerin üzerine 0.2 ml kloroform eklenerek elle kuvvetlice ters-düz edilerek 10 dakika oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda örnekler 12000 rpm de 15 dk +4 °C’de santrifüj edildi. Santifüj işlemi bitiminde süpernatant (üstte kalan renksiz faz) aspire edilerek ependorf tüplere alındı. Üzerine 0.4 ml izopropanol alkol eklenerek ters-düz edildikten sonra yeniden 10 dakika oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon yeniden 12000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek tüpün dibindeki RNA pelleti %70’lik alkol içinde çözüldü. Ardından 7500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra alkol dökülerek yeniden %70’lik alkol eklendi. İkinci tekrardan sonra tüplere 1 ml %99’luk alkol eklenerek son yıkama işlemi gerçekleştirildi. Tekrar 7500 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve RNA içeriği steril kabin içinde kurutuldu. Bu işlemin sonunda tüpün dibindeki RNA peletleri 25 µl RNAase free bidistile su ile çözüldü. Elde edilen RNA’nın spektrofotometre cihazı ile (Merinton, SMA-1000 UV Spectrophotometer, Çin) 550 nm dalga boyunda saflığı ve konsantrasyonu tespit edildikten sonra %1’lik agaroz jelde 100 volt 500 mA’de 30 dakika süre ile yürütülerek

görüntüleme cihazı ile RNA bantlarının varlığı tespit edilerek izolasyon işleminin verifikasyonu gerçekleştirildi.

3.6.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Konsantrasyonu tespit edilen RNA örnekleri RNAase free su kullanılarak 1000 ng/ml olacak şekilde konsantre edildi. DNA sindirimi (digesiton) işlemi ticari kit (Abmgood, Kanada) kullanılarak cDNA eldesi ticari firmanın test protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. cDNA eldesi 55 °C’de 30 dakika ve 85 °C’de 5 dakika inkübe edilerek gerçekleştirildi. Sentezlenen cDNA örnekleri RT-PCR analizleri yapıncaya kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.6.3. İnflamatuvar Sitokin Genlerinin Ekspresyon Seviyelerinin qPCR ile Belirlenmesi

Gen ekspresyonu çalışmaları sırasında GAPDH housekeeping gen olarak seçildi. Deneylerde hedef gen olarak, COX-2, NF-kB, TNF-alfa, IL-6, IL-8, IL-10, IL-33a, IL-1B ve FOX-M1 genlerinin amplifikasyon seviyeleri tespit edildi. Ekspresyon çalışmalarında her grup için 1 µl cDNA örneği kullanıldı. RT-PCR analizlerinde GoTaq PCR Mastermix (Promega, ABD) kullanıldı. Reaksiyon protokolü Montana 4896 RT-PCR (Anatolia, Türkiye) cihazı kullanılarak; 95 °C’de 2 dakika, 95 °C’de 15 saniye, 60 °C’de 60 saniye olarak 40 siklus olacak şekilde uygulandı. Her örnekten duplike olarak çalışıldı. Sonuçlar $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu ile analiz edildi. Kullanılan primerlerin sekansları Çizelge 3. 3 verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan oligonükleotit dizileri.

Gen	Oligosakkarit Dizileri	Kaynak
GAPDH	5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3' 5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG -3'	Hruz ve ark. 2011
IL-33	5'-GGAAGAACACAGCAAGCAAAGCCT-3' TAAGGCCAGAGCGGAGCTTCATAA-3'	Morris ve ark. 2014
FOX-M1	5' -TGCAGCTAGGGATGTGAATCTTC-3' 5' -GGAGCCCAGTCCATCAGAACT-3'	Zhu ve ark. 2020
COX-2	F, 5'-CTTGCTGTTCCACCCATGTCAAA-3' 5'-TGCACTGTGTTTGGAGTGGGTTTC-3'	Yoon ve ark. 2013
TNF-alfa	5'-CGAGTGACAAGCCTGTAGC-3' 5'-GGTGTGGGTGAGGAGCACAT-3'	Yang ve ark. 2013
IL-10	5'-GTGATGCCCCAAGCTGAGA-3' 5'-CACGGCCTTGCTCTTGTTTT-3'	Sapan ve ark. 2017
IL-6	5'-AAATGCCAGCCTGCTGA CGAAC-3' 5'-AACAACAATCTGAGGTGCCCATGCTAC-3'	Yoon ve ark. 2013
IL-1B	5'-AAGCCCTTGCTGTAGTGGTG-3' 5'-GAAGCTGATGGCCCTAAACA-3'	Simanski ve ark. 2019
IL-8	5'-AGCACTCCTTGGCAAACTG-3' 5'-CGGAAGGAACCATCTCACTG-3'	Yarmohammadi ve ark. 2021
NF-kB	5'-AAAGACACATCCGGACCTCG-3' 5'-TGTAAGAGTTCCCCTCCGGT-3'	Açıkgül 2021

3.7. Hayvan Deneyleri

Planlanan çalışmanın temel hipotezleri dikkate alınarak yeterli güçte minimum örneklem büyüklüğünün belirlenebilmesi için ilk etapta literatür taraması yapıldı. Çalışma öncesinde gerekli minimum örneklem büyüklüğünün belirlenmesi için literatürlerden de yararlanılarak; tip 1 hata olasılığı (alfa) = 0.05, güç (1-B) = 0.80 kriterleri kullanılarak ve etki büyüklüğü (f)=0.65 kabul edilmek üzere, toplamda minimum 45 adet ratın çalışmada yer almasının uygun olacağı hesaplanmıştır (Faul 2007, 2009). Deneylerde 300 g ağırlığındaki Wistar albino türü 65 adet erkek sıçan kullanıldı. Güç analizinin yapılmasında PASS 11 ve G*Power Version 3.1.9.2 istatistik programlarından yararlanılmıştır. *H. pylori* gastrit modeli oluşturabilmek için Streptomisin sülfat (5 mg/ml) hayvanların içme sularına 5 gün süre ile katılarak hassasiyet yaratıldı. Bu işlemten sonra *H. pylori* suşları pasajları

takiben PBS içerisinde 5×10^8 cfu/mL olacak şekilde hazırlanarak (her uygulamadan önce taze olarak hazırlandı) 4 saatlik periyot içerisinde günde 2 kez, 1ml/sıçan olacak şekilde 3 gün ardışık süre ile sıçanlara oral gavaj yoluyla inoküle edildi. İnokülasyondan sonra 15 gün bakterinin hayvanların midesine kolonizasyonu için beklenildi. Gastrit oluşumu mide örneklerinden hazırlanan dokuların histopatolojik ve mikrobiyolojik testlerde verifikasyonu yapıldıktan sonra aşağıdaki tedavi gruplarına belirtilen tedaviler 10 gün süre ile uygulandı. Gastrit gelişimini takiben kimyasal bileşikler ve farklı kombinasyonları 1ml/sıçan/gün olacak şekilde uygulandı. Tedavi başarısını takiben ksilazin-ketamin (150/9 mg/kg, i.p.) kombinasyonu ile sakrifiye edilen sıçanların mide örnekleri mikrobiyolojik analizler için PBS içerisinde, histopatolojik analizler için de formaldehit içine konularak analizler için ilgili laboratuvarlara gönderildi (Werawatganon 2014).

Çizelge 3.4. Hayvan deneyi tedavi grupları ve sayıları.

Deney grupları	Sıçan sayısı
Grup 1 (<i>H. pylori</i> kontrol grubu)	5
Grup 2 (<i>H. pylori</i> inokülasyonu yapılmaya sağlıklı kontrol grubu)	5
Grup 3 (ST tedavi grubu)	5
Grup 4 (GA tedavi grubu)	5
Grup 5 (LC tedavi grubu)	5
Grup 6 (AB: Antibiyotik tedavi grubu (AMC+KL))	5
Grup 7 (ST+GA)	5
Grup 8 (ST+LC)	5
Grup 9 (GA+LC)	5
Grup 10 (GA+AB)	5
Grup 11 (ST+LC+AB)	5
Grup 12 (ST+GA+LC)	5
Grup 13 (ST+GA+LC+AB)	5
Toplam hayvan sayısı	65

3.7.1. Mikrobiyolojik Analizler

Dekapitasyonu takiben mide doku örnekleri 10 ml PBS içersine alınarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına soğuk zincir altında ulaştırıldı. Herbir örnekten 1 g olacak şekilde porsiyonlanan dokular önce çift bistüri yöntemi ile kıyıldıktan sonra homojenizatör ile

homojenize edildi. Homojenatlar %5 koyun kanlı agara ekildikten sonra 7 gün süre ile mikroaerofilik ortamda 37 °C’de inkübe edildi. İnkubasyon sonunda *H. pylori* üremesi cfu/mL olarak kaydedildi (Cover 2012).

3.7.2. Histo-Patolojik Analizler

Midenin bir kısmı mikrobiyolojik analizler için ayrılırken bir kısımda histopatolojik analizler için %10’luk formaldehid solüsyonuna konularak laboratuara ulaştırıldı. Patolojik değerlendirmeler Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda gerçekleştirildi. Histopatolojik inceleme için alınan mide dokuları tespit sonrasında 5 mm kalınlığında küçültülerek bir gece akan çeşme suyunda yıkandı. Rutin olarak etil alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirilerek tespit edildikten sonra parafinde bloklandı. Bu şekilde hazırlanan doku bloklarından mikrotomla 4 mikron kalınlığında alınan kesitler; önce 37°C’lik su banyosuna atılıp açılmaları sağlandı ve sonra da lamlara alınarak 30 dakika 54°C’lik etüvde kurutuldu. Bütün doku kesitlerine rutin hematoksilin eozin (HE) boya yöntemi uygulandı. Bu amaçla lama alınan kesitler; ksilende 3 kez 5’er dakika bekletilerek deparafinize edildi. Sırayla alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi. Harris’in hematoksilin-ezoin (HE) yöntemine göre boyandı. Tekrar alkol ksilolden geçirilip yapıştırıcı (Entellan) yardımıyla lamel ile kapatıldı. Işık mikroskop altında (Olympus CX31) incelendikten sonra mikrofotoğrafları (Olympus DP12) alındı. Mikroskobik inceleme ve skorlama işlemleri Suzana ve ark. (2009)’a göre yapıldı.

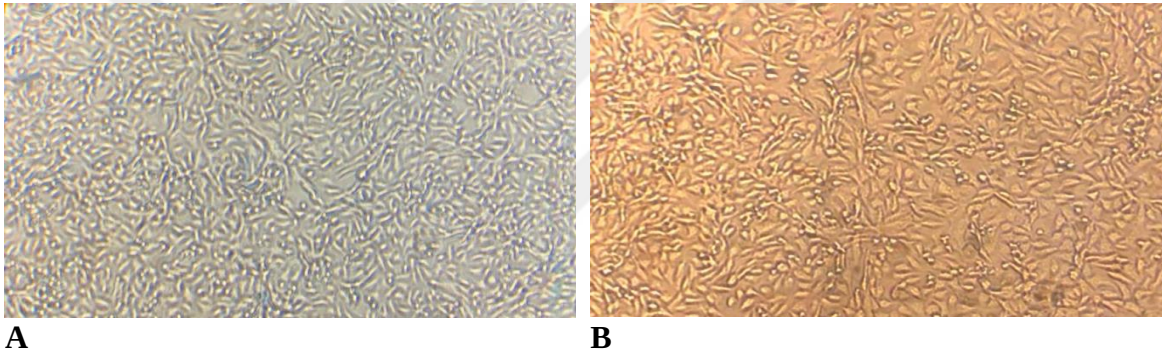
3.8. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Windows v. 23, Chicago, IL) programı kullanılarak yapıldı. Grup geometrik ortalamaları arası farkların önem dereceleri test edilirken tüm analizlerde farklar $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

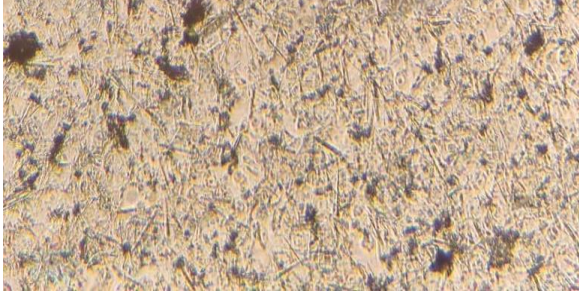
4.1. DMSO'nun Sitotoksik Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Ticari olarak temin edilen G. asidin besiyerinde homejenizasyonu için DMSO solvent olarak seçildi. DMSO'nun hüce proliferasyonunu etkilemeyen non-toksik konsantrasyonu MTT yöntemiyle belirlendi. Solvent konsantrasyonu olarak non-toksik olarak belirlenen %1'lik DMSO konsantrasyonu seçildi. Şekil 4. 1'de G. asidin çözöldüğü %1'lik DMSO ile muamele edilen hücrelerin inkübasyonun 96. saatinde kontrol grubuyla kıyaslı olarak morfolojik görüntüleri verilmiştir. İçerisinde DMSO bulunan kültürlerde hücrelerde herhangi bir sitotoksiste tespit edilmedi. Hücreler tipik morfolojide monolayer tarzda kültür kabı yüzeyini kaplayarak kontrol grubundan farksız görünüm verirken iki grup arasında hücre canlılığı arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

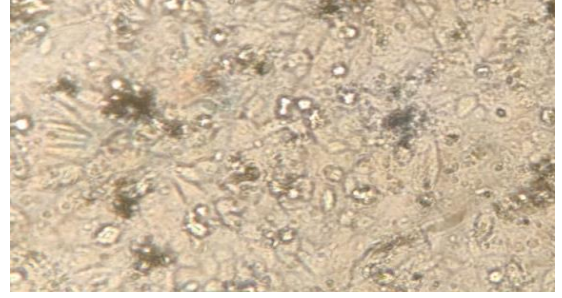


Şekil 4. 1. Vero hücreleri. A. 96 saat inkübasyondan sonra içerisinde DMSO bulunmayan hücre kültürünün mikroskopik görüntüsü. B: içerisinde $\leq$ %2 DMSO bulunan hücre kültürünün morfolojik görünümü (10 $\times$)

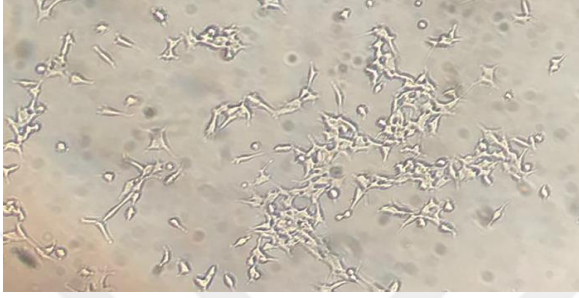
Deneylerde *S. thermophilus*, *L. casei* ve G. asitin non-sitotoksik konsantrasyonu belirlendi. Aktivite çalışmaları bu non-toksik konsantrasyonlar dahilinde gerçekleştirildi (şekil 4.2 ve 4.3).



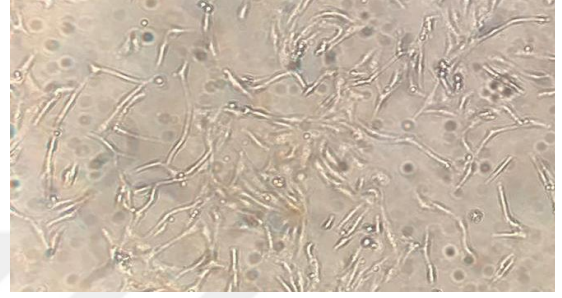
640 µg/ml



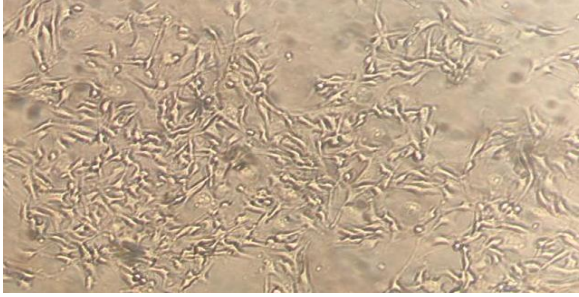
320 µg/ml



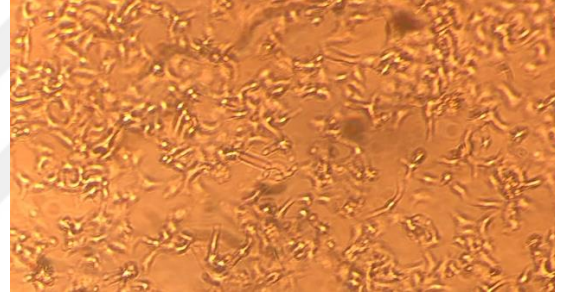
160 µg/ml



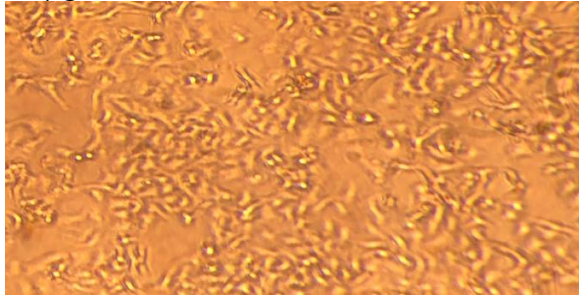
80 µg/ml



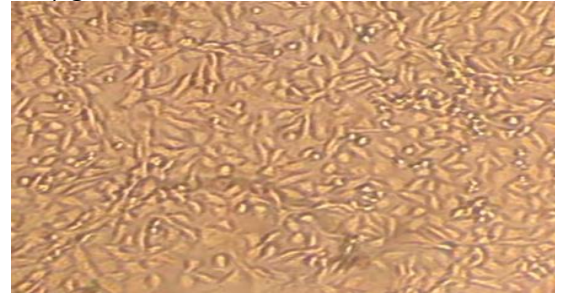
40 µg/ml



20 µg/ml

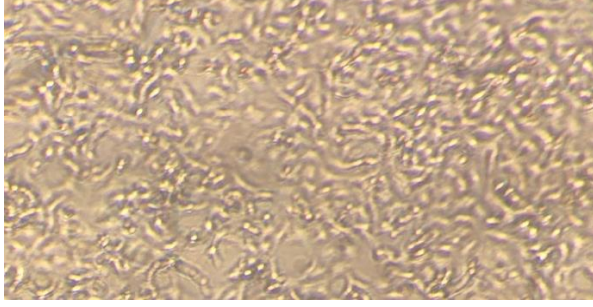


10 µg/ml

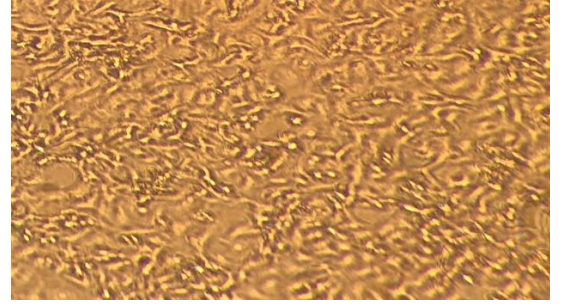


5 µg/ml

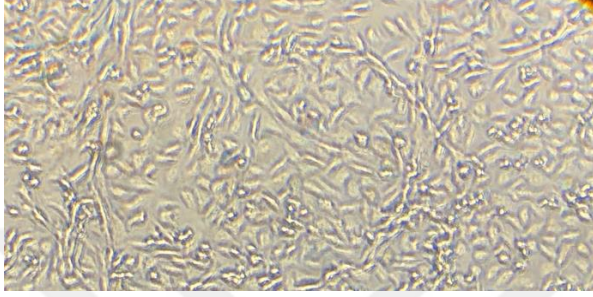
Şekil 4.2. Vero hücre hattında Glycyrrhetic asitin farklı konsantrasyonlarda hücre morfolojileri üzerinde meydana getirdiği sitopatolojik değişiklikler.



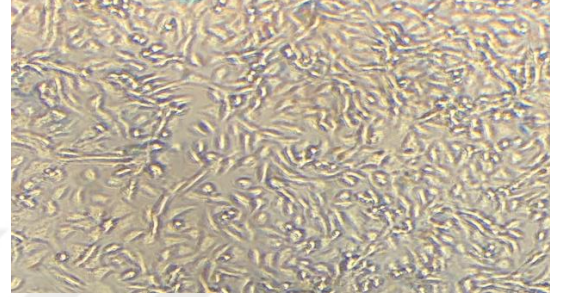
48 µl/ml



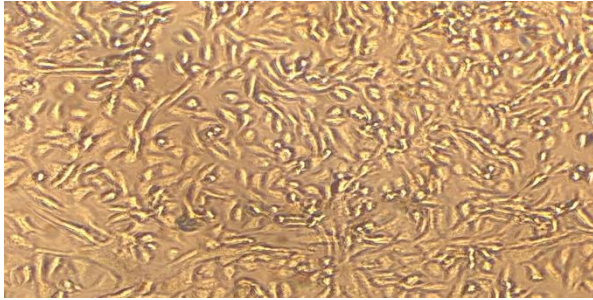
24 µl/ml



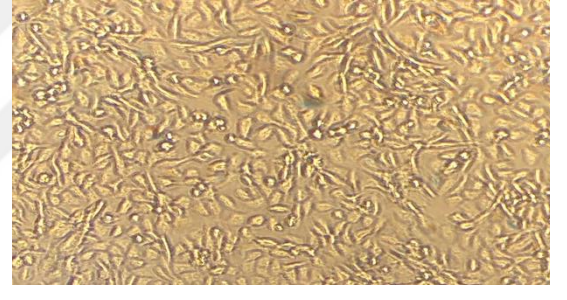
12 µl/ml



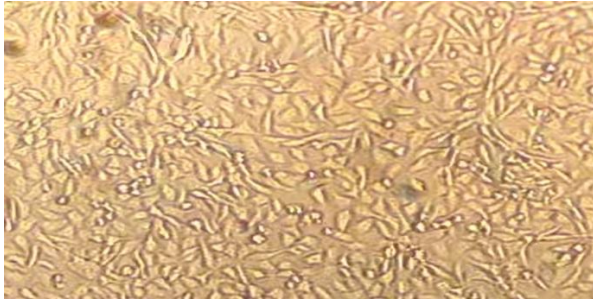
6 µl/ml



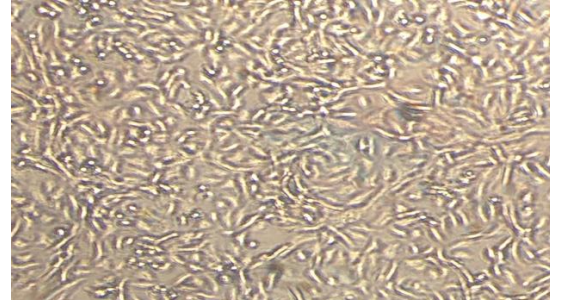
3 µl/ml



1.5 µl/ml



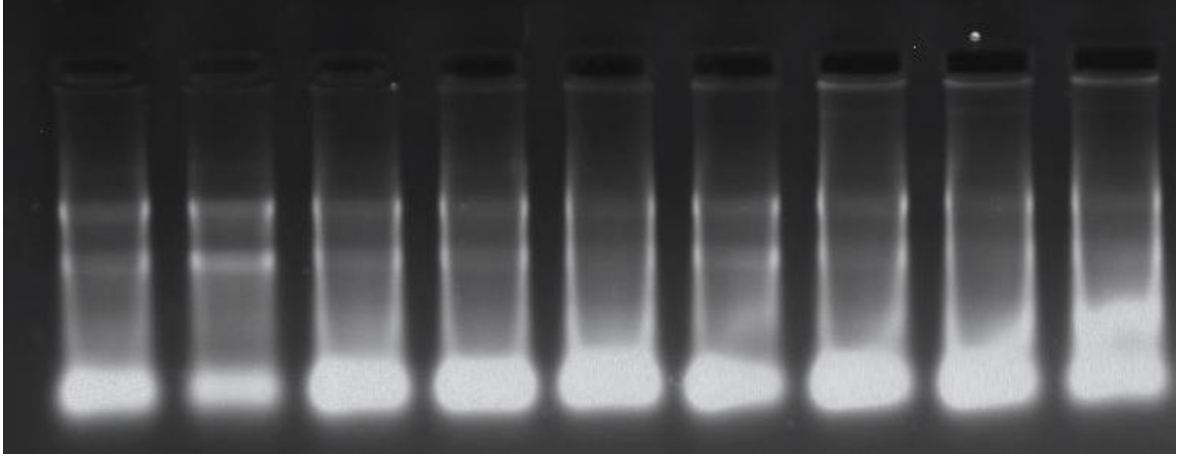
0.75 µl/ml



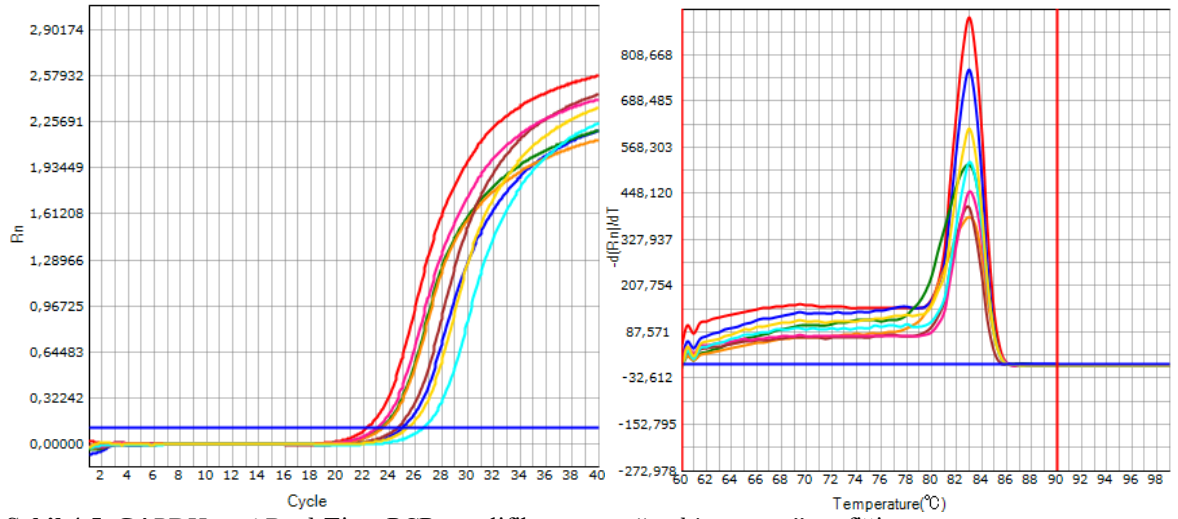
0.37 µl/ml

Şekil 4. 3. Vero hücre hattında *S. thermophilus* biyoaktif metabolitlerinin farklı konsantrasyonlarda hücre morfolojileri üzerinde meydana getirdiği sitopatolojik değişiklikler.

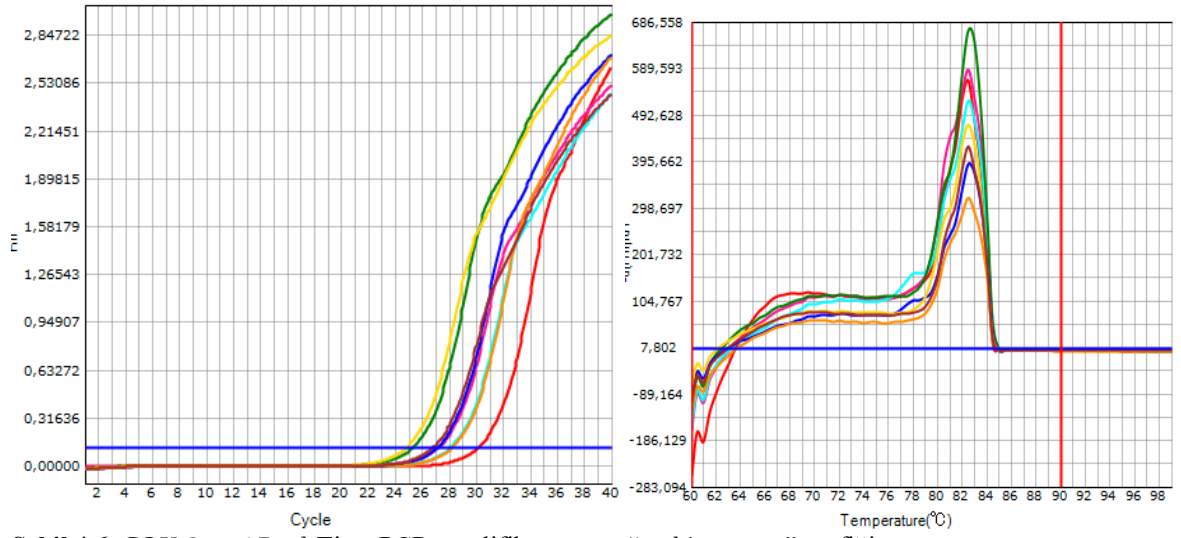
4.2. Gen Ekspresyon Analizi Sonuçları



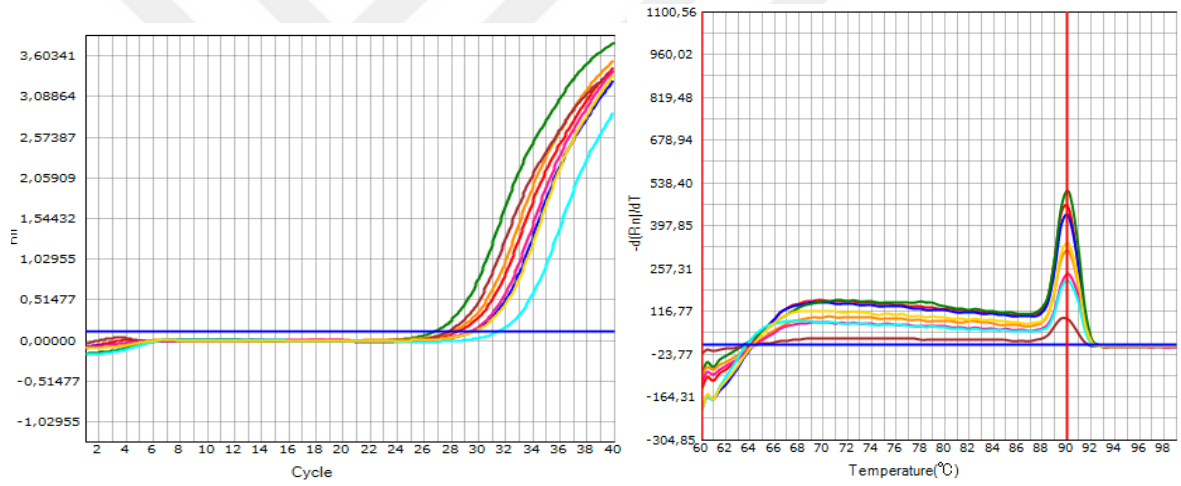
Şekil 4.4. AGS hücre hattından izole edilen RNA'ların elektroforezde görüntüleri.



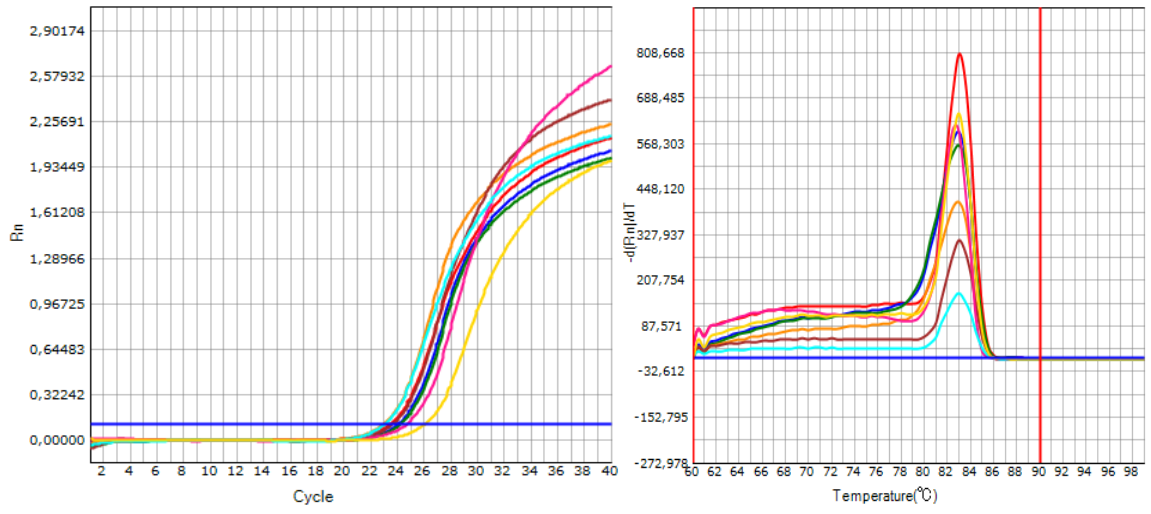
Şekil 4.5. GAPDH geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



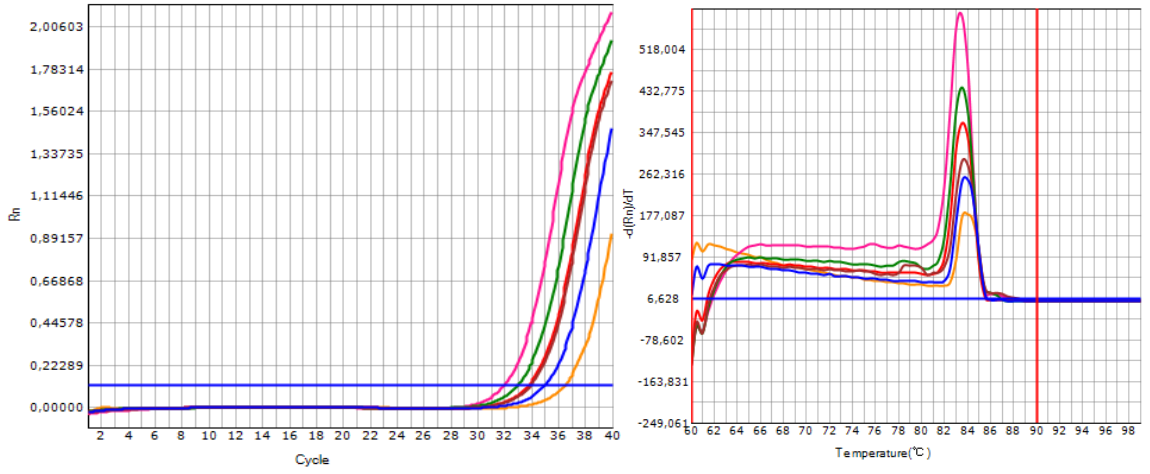
Şekil 4.6. COX-2 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



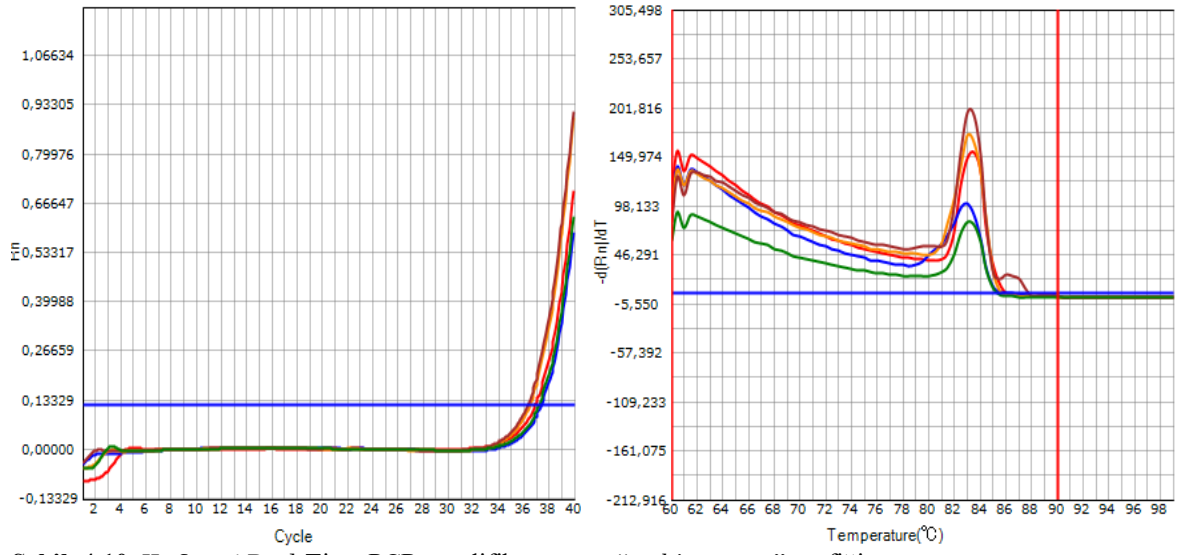
Şekil 4.7. NF-κB geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



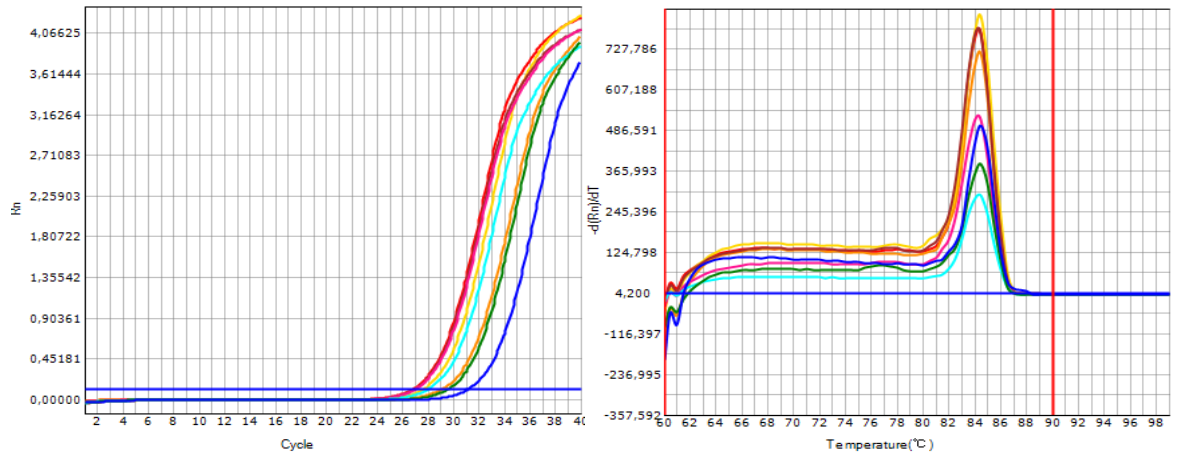
Şekil 4.8. TNF-alfa geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



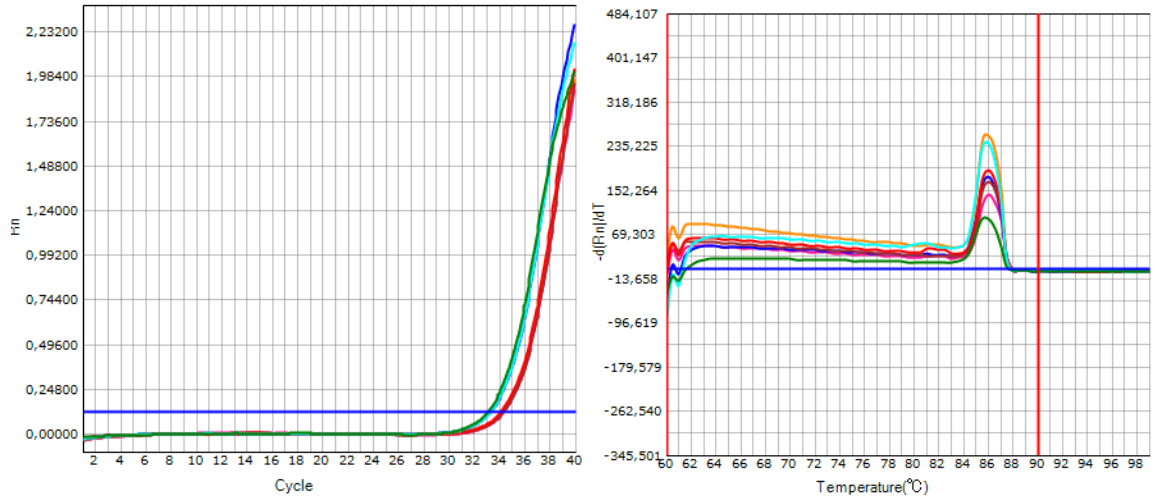
Şekil 4.9. IL-1 beta geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



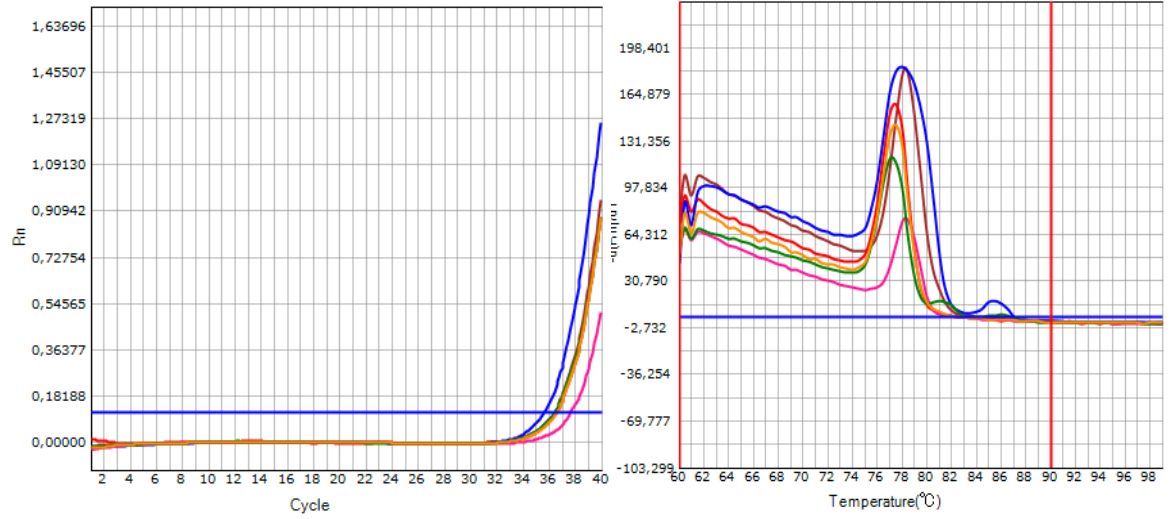
Şekil. 4.10. IL-6 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



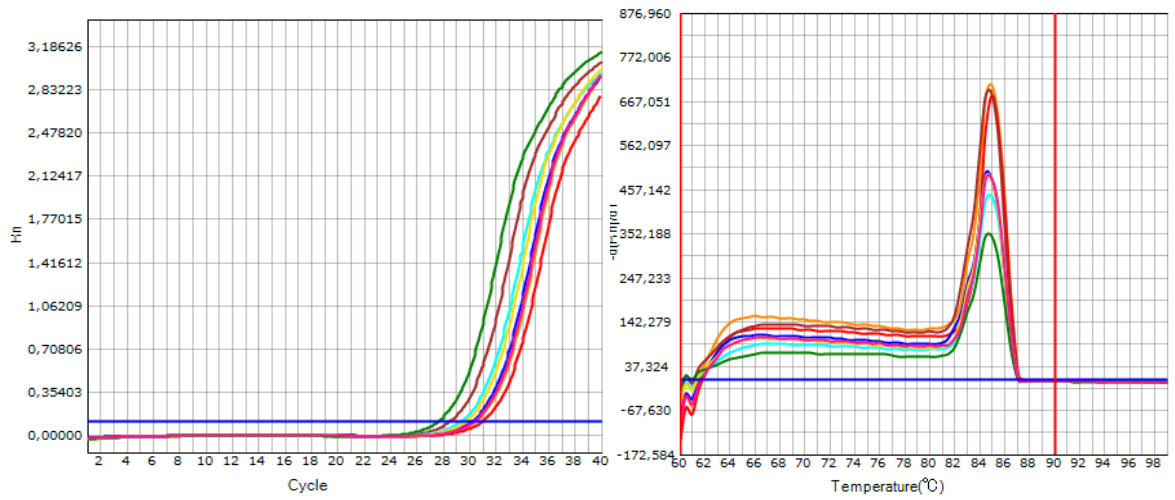
Şekil 4.11. IL-8 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



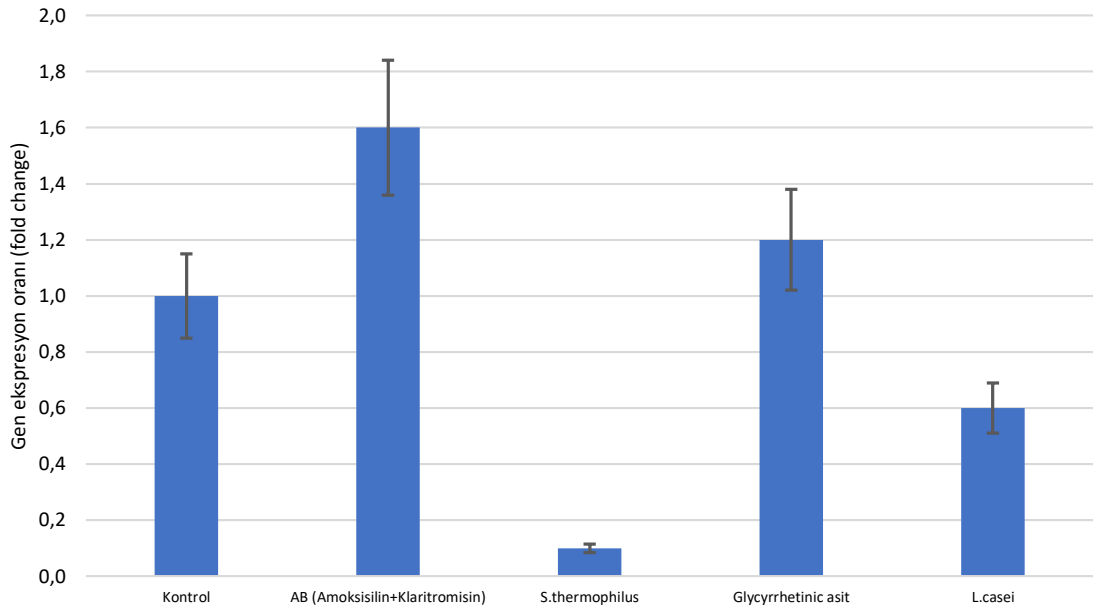
Şekil 4.12. IL-10 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



Şekil 4.13. IL-33 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



Şekil 4.14. FOX-M1 geni Real-Time PCR amplifikasyon ve “melting curve” grafiği.



Şekil 4.15. G. asit, S. *thermophilus* ve L. *casei*'nin AGS hücreleri üzerinde H. *pylori* enfeksiyonunda COX-2 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P>0.05	AB&GA P>0.05
Kontrol&LC: P>0.05	AB& LC: P<0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

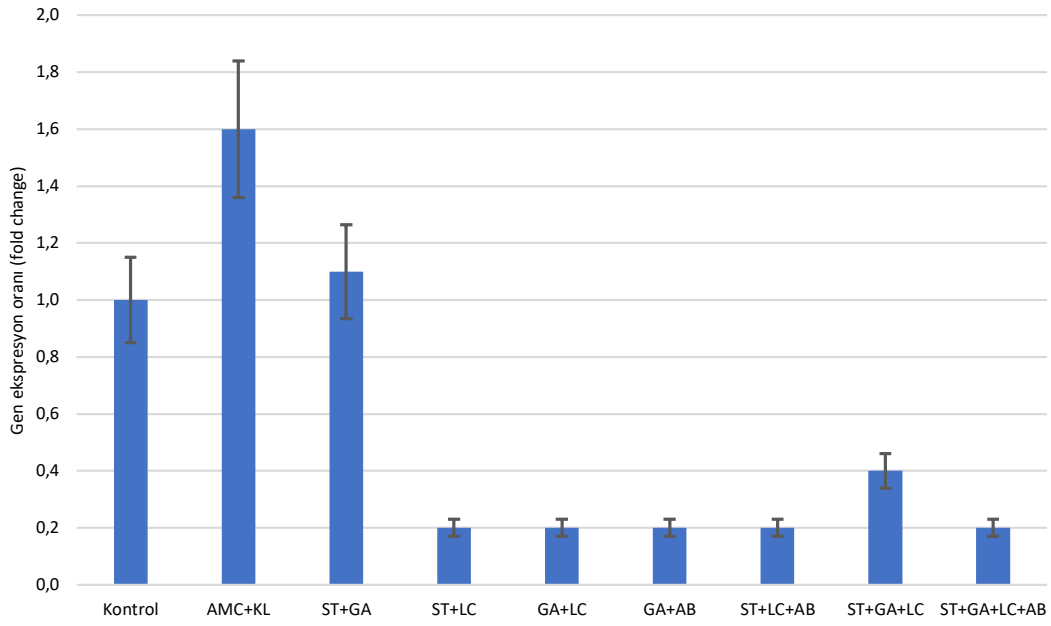
ST: S.*thermophilus* tedavi grubu

GA: G.*asit* tedavi grubu

LC: L.*casei* tedavi grubu

AB: Antiniyotik tedavi grubu

Şekil 4.15.'de insan mide hücrelerinde H. *pylori* enfeksiyonunu G. asit, S. *thermophilus* ve L. *casei* tedavi grubunun konvansiyonel antibiyotik tedavisiyle kıyaslı olarak COX-2 sentezi üzerindeki etkisi verilmiştir. Tedavi gruplarındaki etkinlik non-infektif AGS hücrelerinin COX-2 sentezi ile kıyaslı olarak değerlendirilmiştir. S. *thermophilus* biyokomponentlerinin COX-2 gen ekspresyonunun hem antibiyotik tedavi grubundan hem de kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek inhibe ettiği saptanmıştır (Şekil 4.15, 4.6).

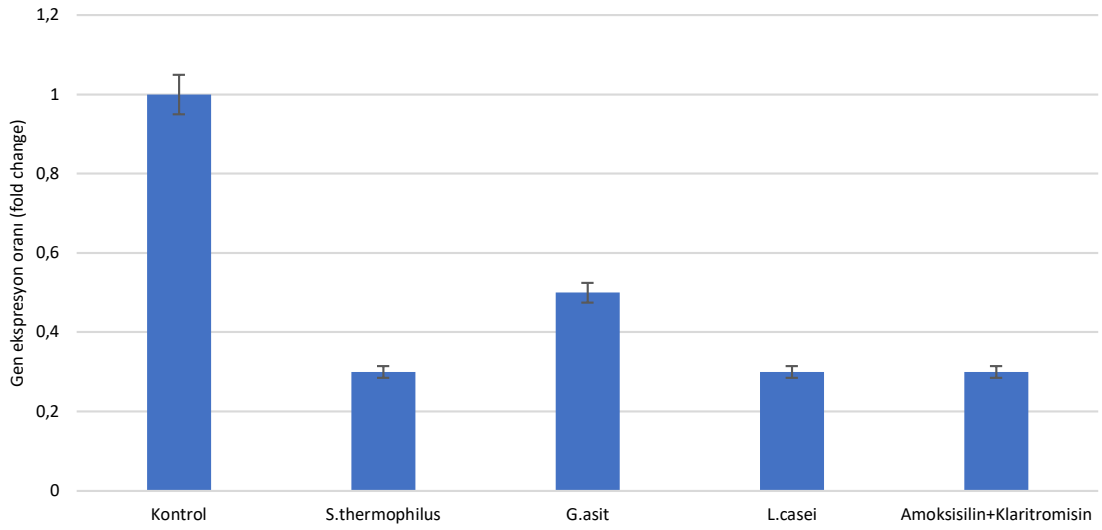


Şekil 4.16. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda COX-2 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P>0.05	AB& ST+GA: P>0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P<0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P<0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Şekil 4.16.'da G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin COX-2 gen ekspresyonu üzerindeki etkinliği komponentlerin birbirleri ve antibiyotiklerle kombine olarak da kontrol grubu ve antibiyotik grubuyla karşılaştırılmış tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.16, 4.6).

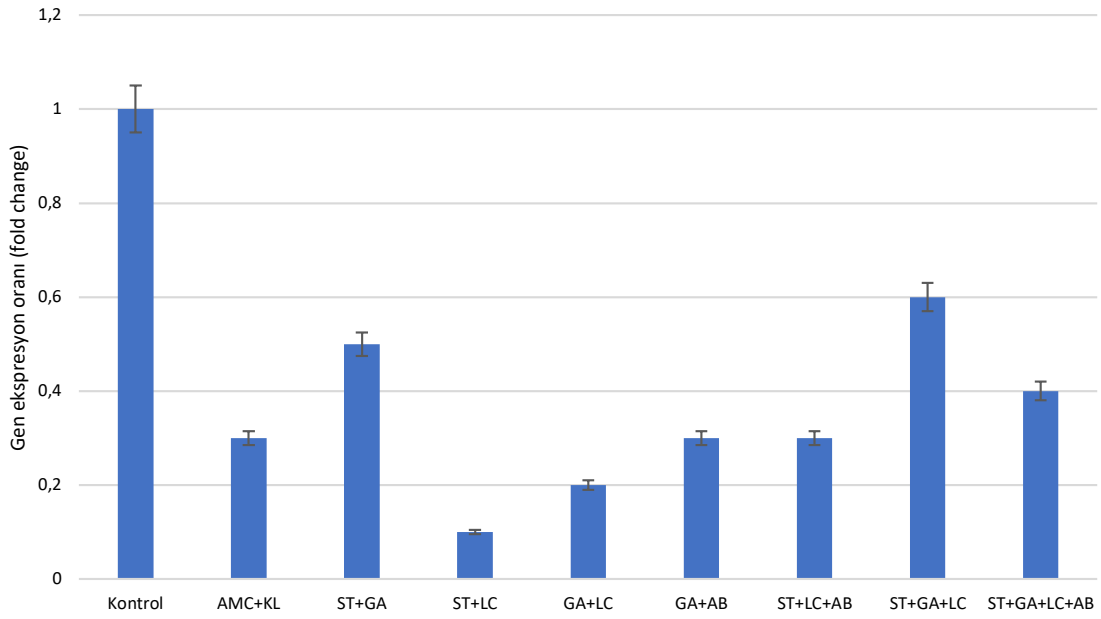


Şekil 4.17. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda NF-kB sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P>0.05
Kontrol&GA: P<0.05	AB&GA: P>0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P>0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

H. pylori'ye karşı antibiyotik tedavi grubu ile G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin Nf-kB-1 gen ekspresyonu üzerindeki etkinliği Figür 3'te verilmiştir. En yüksek inhibitor etkinliği *S. thermophilus* ve *L. casei* biyokomponentlerinin gösterdiği tespit edilmiştir. Nf-kB ekspresyon düzeyleri kontrol grubu ile anlamlı derecede azalmış olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.17, 4.7).

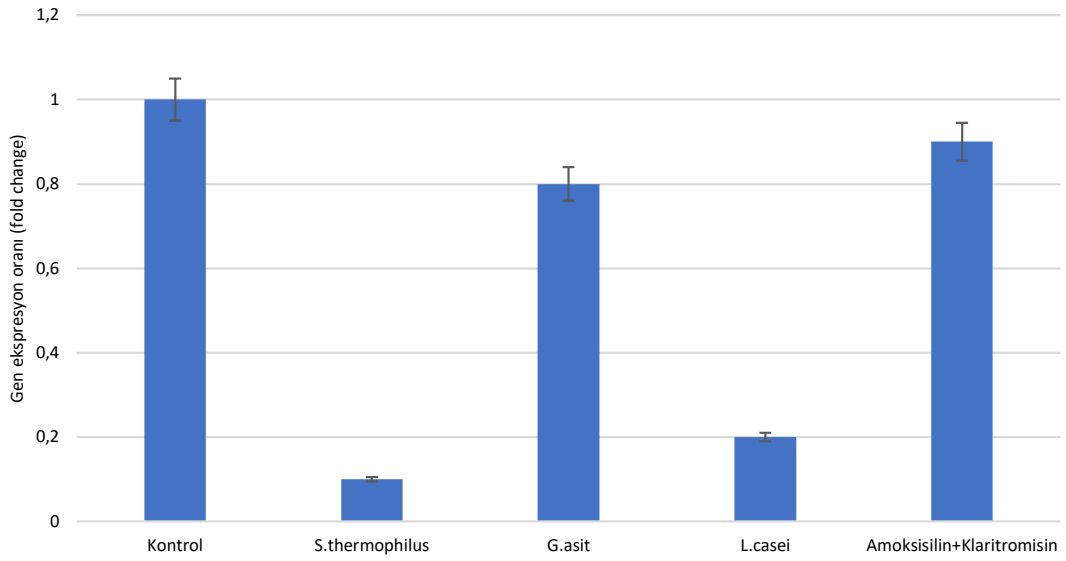


Şekil 4.18. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda Nf-kB-1 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P>0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P>0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P>0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P>0.05

NF-kB gen ekspresyonu üzerindeki etkinlik bileşiklerin kombine uygulamaları ile de *H. pylori* ile enfekte hücrelerde araştırılmış, *S. thermophilus* artı *L. casei* kombinasyonunun güçlü bir sinerjizm oluşturduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında G. asit artı *L. casei* kombinasyonunun da oldukça önemli NF-kB ekspresyonunu inhibisyonu gerçekleştirdiği saptanmıştır (Şekil 4.18, 4.7).



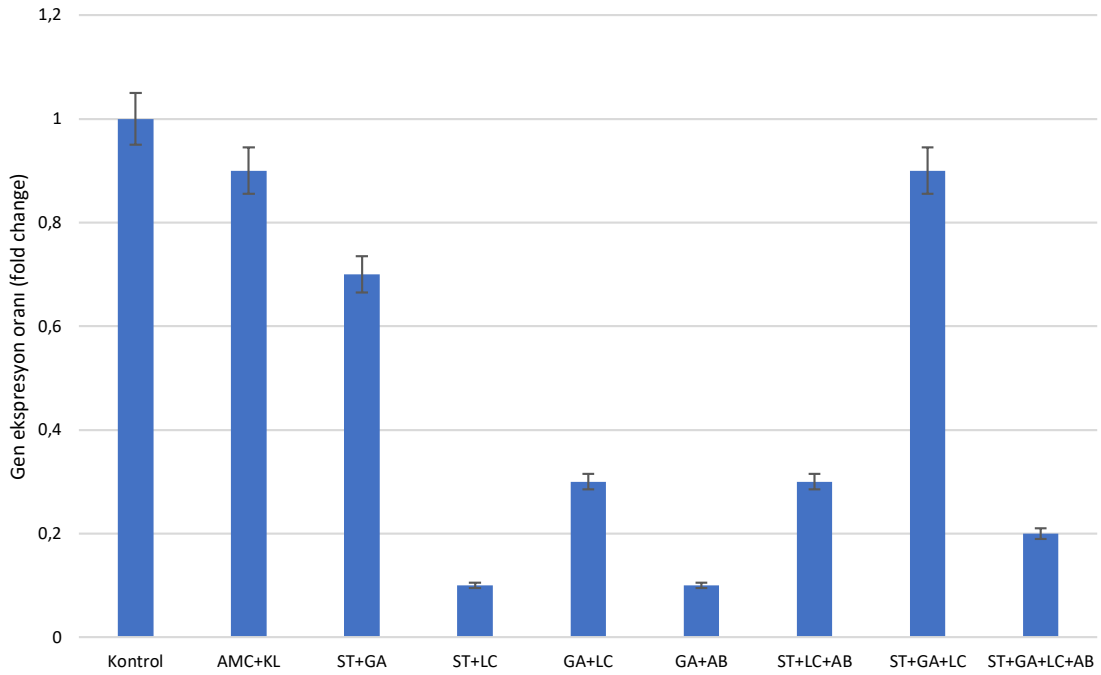
Şekil 4.19. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda TNF- α sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri:

Kontrol&ST: P<0.05
 Kontrol&GA: P>0.05
 Kontrol&LC: P<0.05
 Kontrol&AB: P>0.05

AB&ST: P<0.05
 AB&GA: P>0.05
 AB&LC: P<0.05

Şekil 4.19.'da önemli bir inflamatuvar ajan olan TNF- α 'nın *H. pylori* ile infekte hücrelerde biyokomponent tedavisini takiben ekspresyon düzeyleri verilmiştir. Antibiyotik ve G. asit tedavi grubunda hücrelerde TNF- α ekspresyon seviyelerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede azaldığı tespit edilirken, en güçlü etkinliğin *S. thermophilus* tedavi grubunda elde edildiği, hem *S. thermophilus* hem de *L. casei* biyokomponentlerinin TNF- α ekspresyonunu anlamlı düzeyde inhibe ettiği tespti edilmiştir (Şekil 4.19, 4.8).

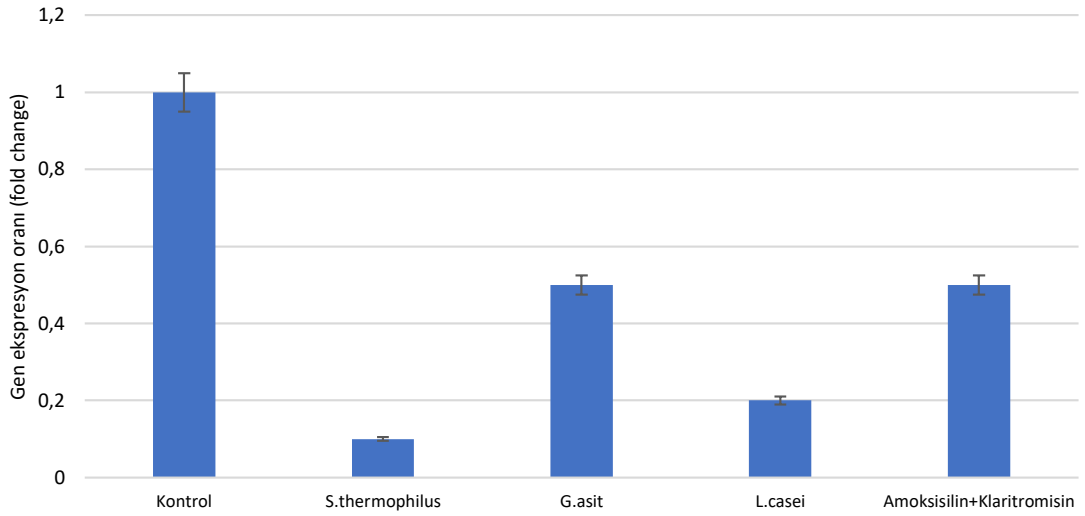


Şekil 4.20. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda TNF- α sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P>0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P<0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P<0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P>0.05	AB& ST+GA+LC: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Bileşiklerin kombine tedavi gruplarında TNF-alfa gen ekspresyonu üzerindeki etkinlikleri incelendiğinde ise *S. thermophilus* artı *L. casei* kombinasyonun gen ekspresyonunun en güçlü düzeyde inhibe ettiği tespit edilirken, G. asit artı antibiyotik tedavi grubunda da bu gen üzerinde güçlü bir inhibitör etki saptanmıştır. Benzer şekilde *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik tedavisinin hücrelerde TNF- α gen ekspresyonu üzerinden anlamlı derecede inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.20, 4.8).

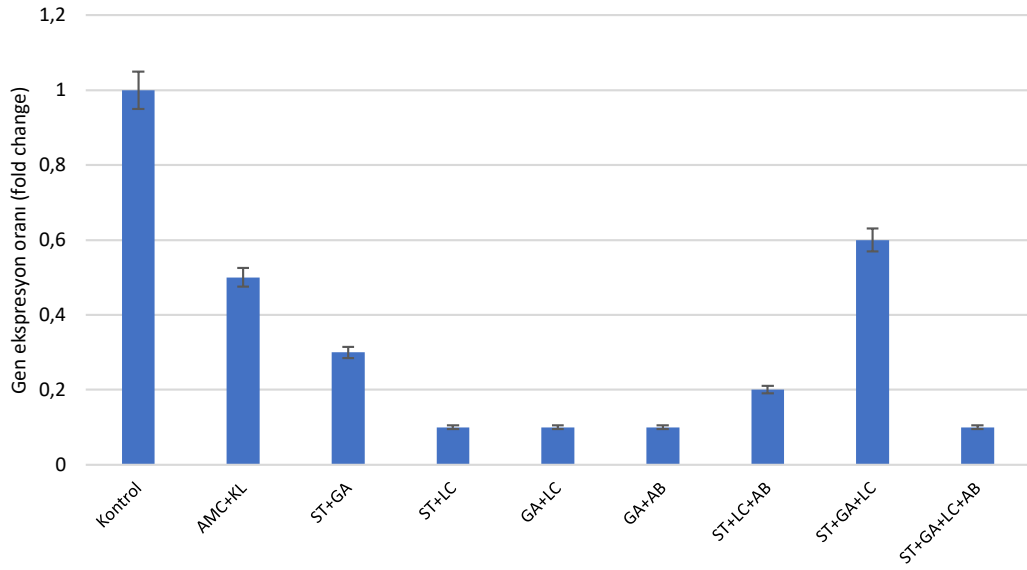


Şekil 4.21. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-1 β sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri:

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P<0.05	AB&GA: P>0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P<0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

Önemli bir proinflatuar sitokin olan IL-1 β sentezi kontrol grubuyla kıyaslandığında *S. thermophilus* ve *L. casei* biyokomponentlerinin oldukça güçlü bir inhibitör etkinlik sergilediği tespit edilirken, G. asit ve antibiyotik tedavi grubu kontrol grubuyla kıyaslandığında IL-1 β gen ekspresyonu üzerinde anlamlı bir azalma meydana gelmediği saptanmıştır (Şekil 4.21, 4.9).

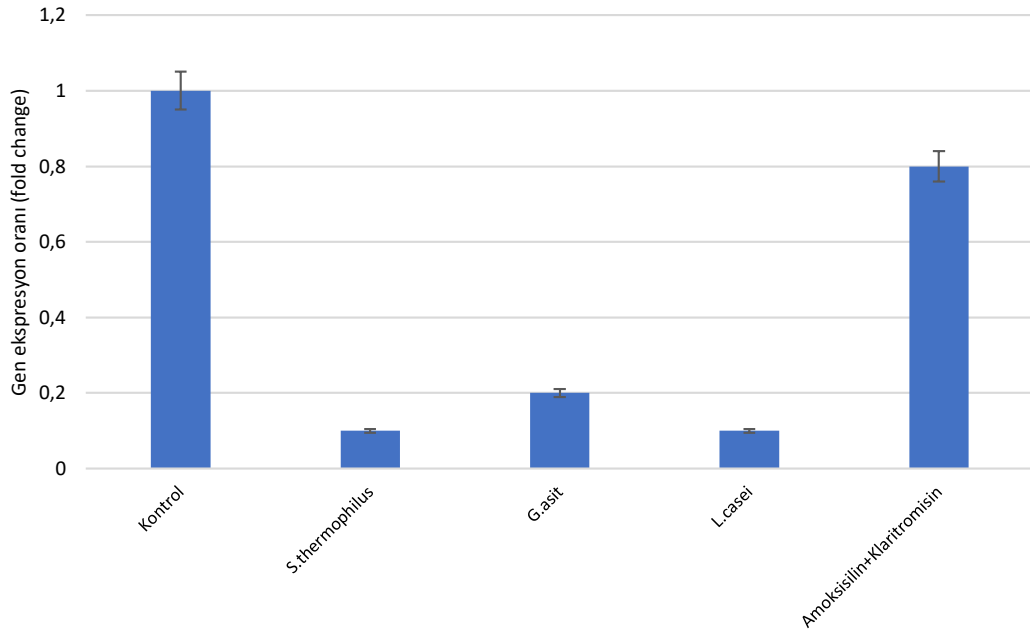


Şekil 4.22. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-1 β sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P>0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P<0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P<0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Bileşiklerin farklı kombinasyonlarının IL-1 β ekspresyonu üzerindeki deneylerde ise ikili (*S. thermophilus* artı *L. casei*, G. asit artı *L. casei*, G. asit artı antibiyotik), üçlü (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik) ve dörtlü (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik) kombinasyonların güçlü bir sinerjizm oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22, 4.9).

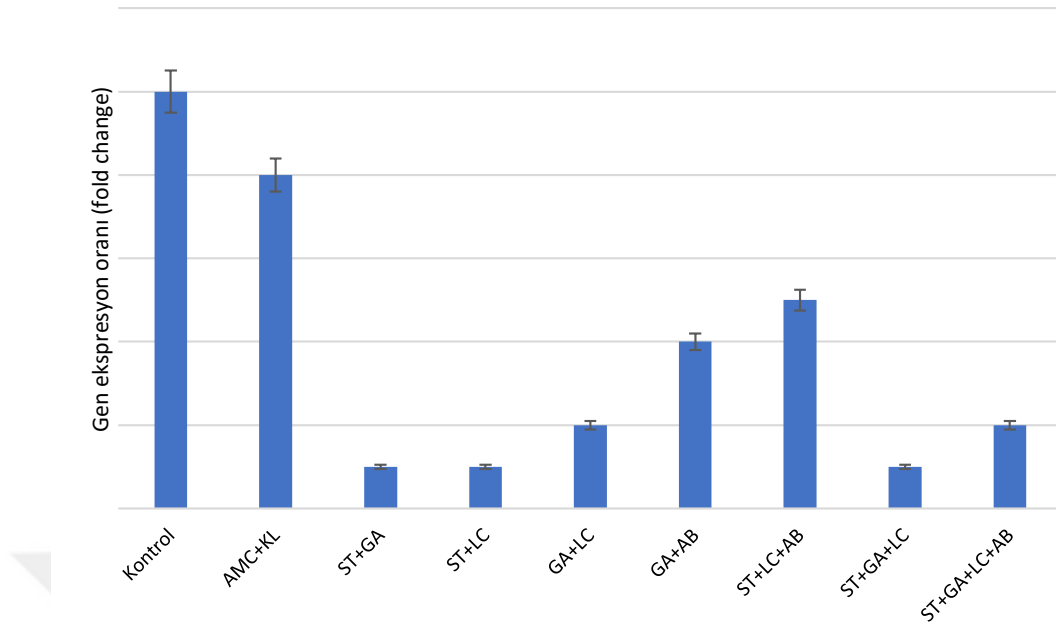


Şekil 4.23. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-6 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P<0.05	AB&GA: P<0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P<0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

Şekil 4.23.'de G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin *H. pylori* ile enfekte hücrelerde AGS hücrelerinde IL-6 gen ekspresyonu üzerindeki etkinlikleri verilmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında pro-inflamatuar sitokinlerden IL-6'nın salınımını *S. thermophilus*, *L. casei* ve G. asitin anlamlı derecede inhibe ettiği tespit edilmiştir. Antibiyotik tedavi grubunda ise anlamlı bir azalma saptanmamıştır (Şekil 4.23, 4.10).

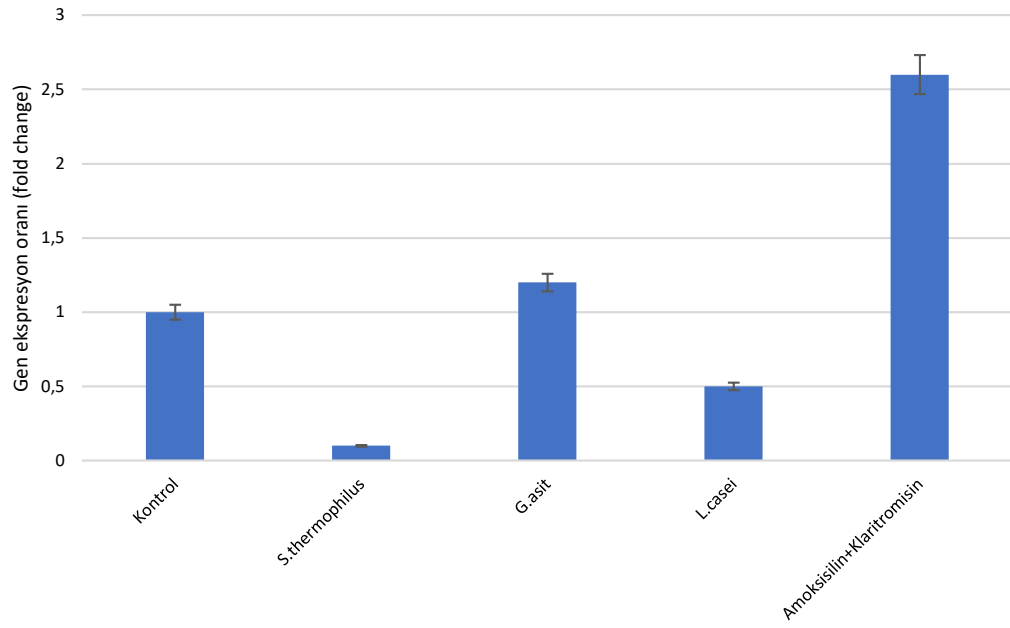


Şekil 4.24. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-6 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P<0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P<0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P<0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Bileşiklerin tekli etkinliklerinde olduğu gibi kombine tedavi gruplarında da IL-6 gen ekspresyonu üzerinde inhibitör etki tespit edilmiş, antibiyotik tedavi grubunun IL-6 ekspresyonu üzerinde inhibitör etkisi olmazken, *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit tedavi grubu kontrol grubuyla kıyaslandığında IL-6 gen ekspresyonunun anlamlı derecede inhibe edildiği tespit edilmiştir (Şekil 4.24, 4.10).

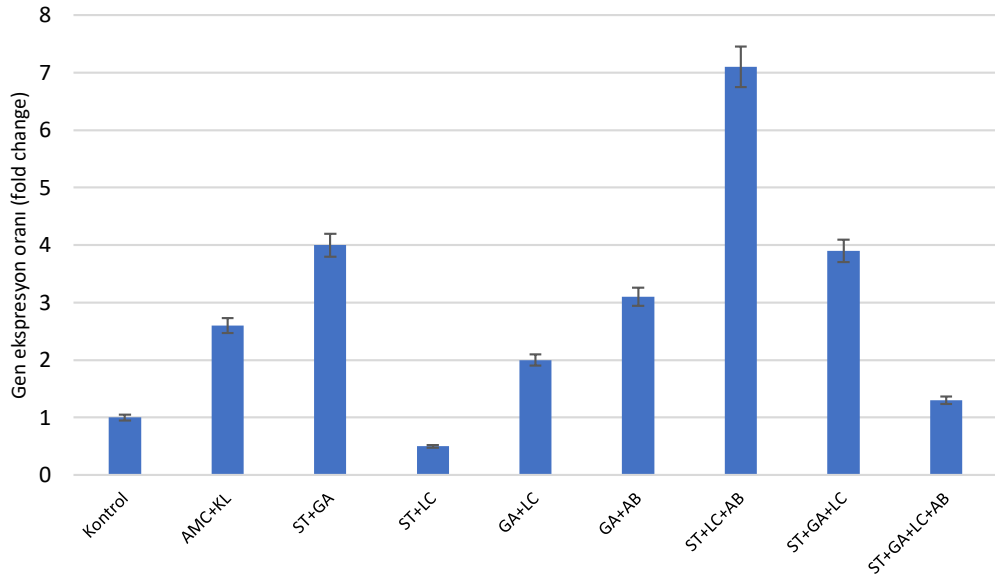


Şekil 4.25. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-8 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P>0.05	AB&GA: P<0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P<0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

Şekil 4.25.'de G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei* tedavi gruplarında *H. pylori* enfeksiyonu sırasında IL-8 gen ekspresyonu üzerindeki değişimleri verilmiştir. *S. thermophilus* biyokomponentleri IL-8 ekspresyonunu anlamlı düzeyde inhibe ederken, G. asit ve *L. casei* tedavi gruplarında ekspresyon seviyelerinde anlamlı değişim meydana gelmemiştir. Antibiyotik tedavi grubunda ise kontrol grubundan anlamlı düzeyde IL-8 ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.25, 4.11).

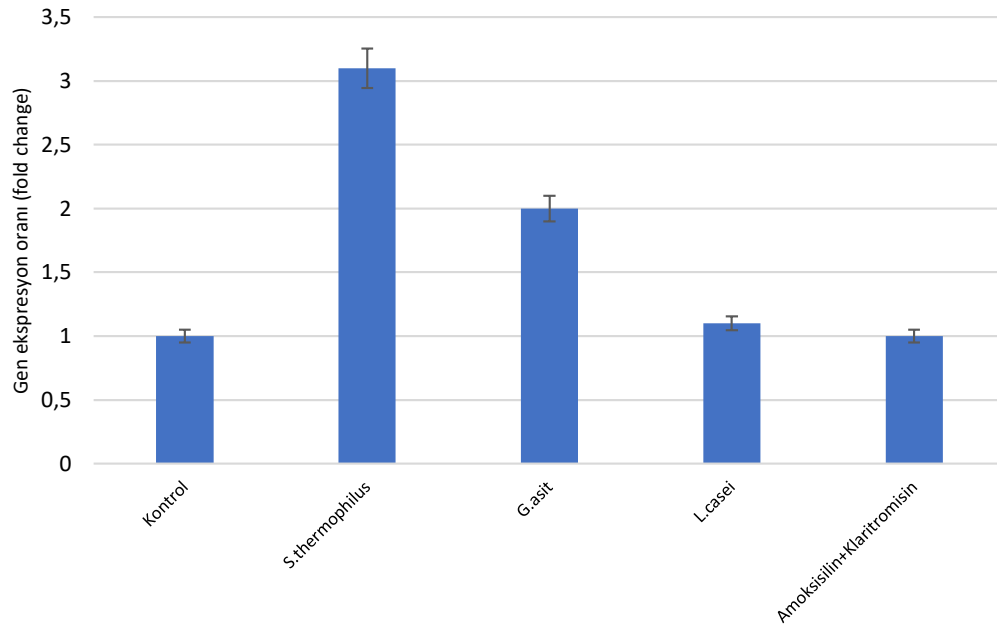


Şekil 4.26. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-8 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P>0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P>0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P>0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P>0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Deneylerde biyokomponentlerin ikili (*S. thermophilus* artı G. asit, G. asit artı *L. casei*, G. asit artı antibiyotik) ve üçlü (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik, *S. thermophilus* artı G. asit artı *L. casei*) tedavi gruplarında IL-8 gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. En güçlü etkinliğin *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik tedavi grubunda görüldüğü tespit edilmiş oldukça güçlü bir sinerjizm meydana gelmiştir (Şekil 4.26, 4.11).

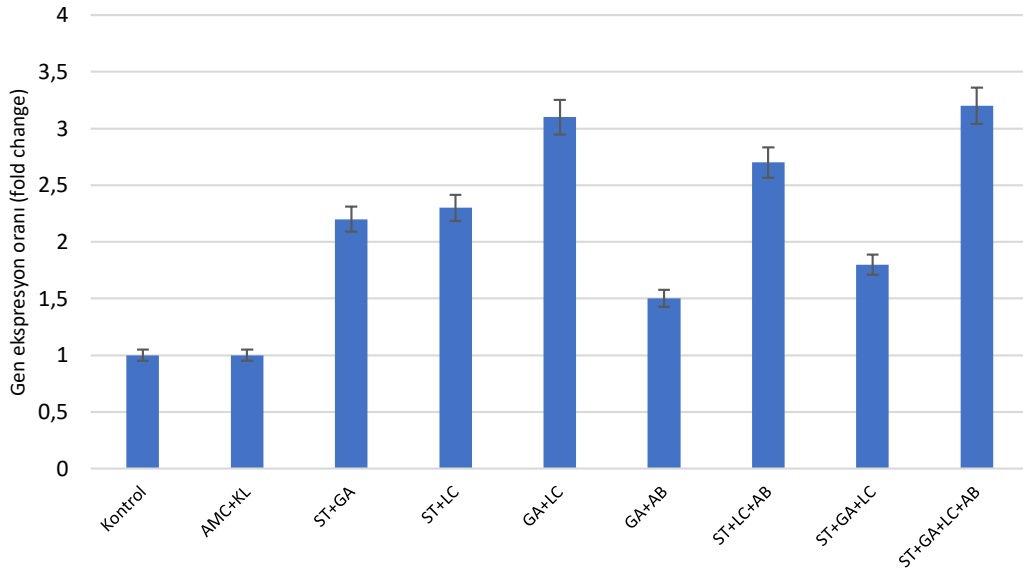


Şekil 4.27. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-10 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P<0.05	AB&GA: P<0.05
Kontrol&LC: P>0.05	AB&LC: P>0.05
Kontrol&AB: P>0.05	

Şekil 4.27'de antibiyotik ve üç bileşiğin (G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei* biyokomponentleri) kullanıldığı tedavi gruplarında IL-10 ekspresyon düzeyleri verilmiştir. Deneylerde antibiyotik ve *L. casei* tedavi gruplarında kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir yükselme görülmezken, G. asit tedavi grubunda anlamlı olmasa da bir yükselme, *S. thermophilus* tedavi grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı ölçüde IL-10 ekspresyonunda artış tespit edilmiştir (Şekil 4.27, 4.12).

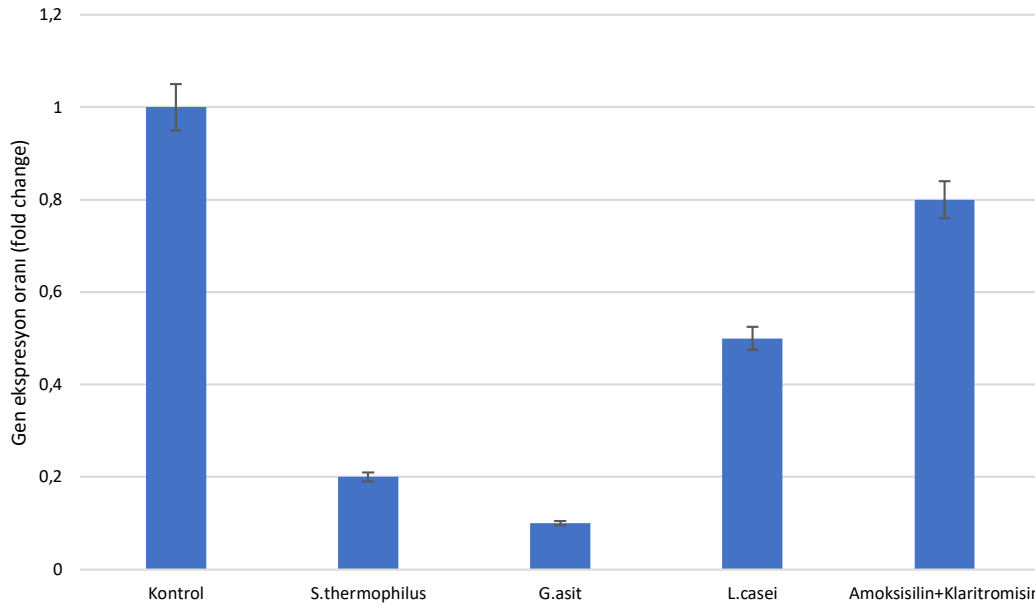


Şekil 4.28. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-10 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P<0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P<0.05
Kontrol&GA+AB: P>0.05	AB& GA+AB: P>0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P>0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P<0.05

Deneylerde ikili üçlü ve dördü kombinasyon tedavi gruplarında IL-10 ekspresyonunda oldukça anlamlı artışlar olduğu tespit edilmiştir. Özellikle G. asit artı *L. casei* ve *S. thermophilus* artı G. asit artı *L. casei* artı antibiyotik tedavi gruplarından kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artışların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.28, 4.12).

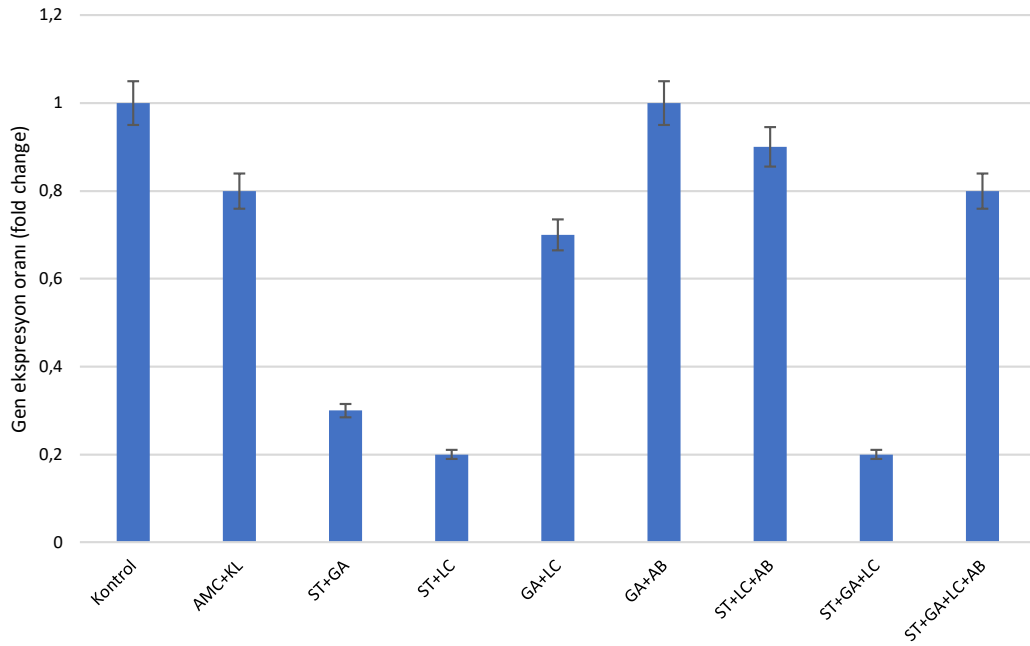


Şekil 4.29. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-33 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P<0.05	AB&GA: P<0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P>0.05
Kontrol&AB: P>0.05	

Şekil 4.29'da *S. thermophilus* ve G. asit tedavi gruplarında IL-33 gen ekspresyonunun kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede inhibe edildiği tespit edilirken, antibiyotik tedavi grubunda bu sitokin sentezinin kontrol grubundan farksız olduğu, *L. casei* tedavi grubunda ise kontrol grubuna kıyasla bir azalış tespit edilirken bu azalmanın anlamsız düzeyde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.29, 4.13).

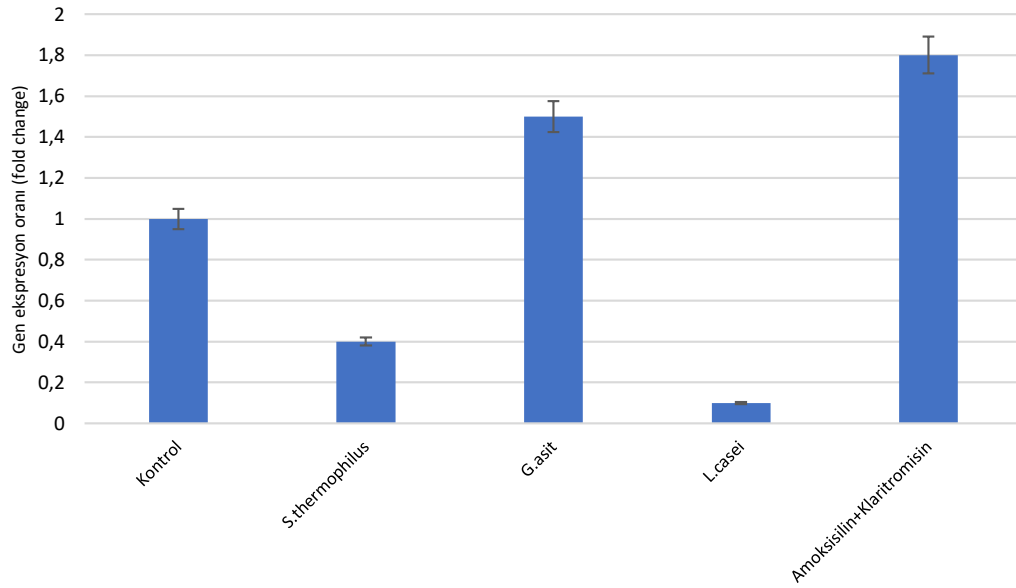


Şekil 4.30. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda IL-33 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P<0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P<0.05
Kontrol& GA+LC: P>0.05	AB& GA+LC: P>0.05
Kontrol&GA+AB: P>0.05	AB& GA+AB: P>0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P>0.05	AB& ST+LC+AB: P>0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P>0.05	AB& ST+GA+LC+AB: P>0.05

Kombine tedavi gruplarında ise IL-33 gen ekspresyonu üzerinden *S. thermophilus* artı G. asit, *S. thermophilus* artı *L. casei* ile *S. thermophilus* artı G. asit artı *L. casei* tedavi gruplarında IL-33 gen ekspresyonu seviyelerinde anlamlı düzeyde bir azalış meydana gelmiştir (Şekil 4.30, 4.13).

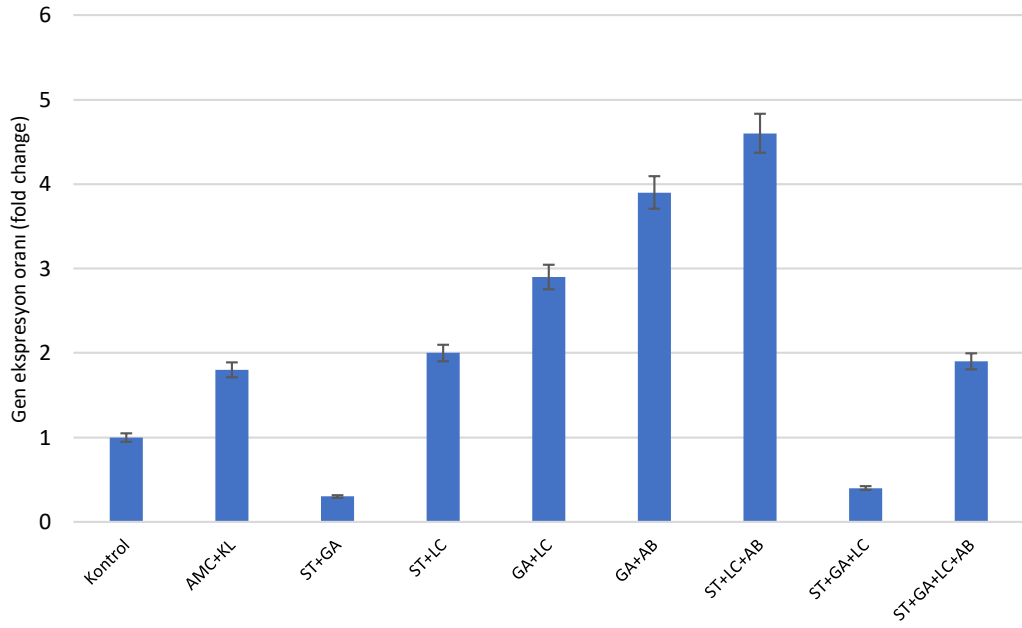


Şekil 4.31. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda FOX-M1 sentezi üzerindeki etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST: P<0.05	AB&ST: P<0.05
Kontrol&GA: P>0.05	AB&GA: P>0.05
Kontrol&LC: P<0.05	AB&LC: P<0.05
Kontrol&AB: P<0.05	

Şekil 4.31.'de Fox-M1 gen ekspresyonunun *S. thermophilus* ve *L. casei* biyokomponentlerinin uygulandığı enfekte hücrelerde kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilirken, antibiyotik ve G. asit tedavi gruplarında anlamlı olmasa da artış olduğu saptanmıştır (Şekil 4.31, 4.14).



Şekil 4.32. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının AGS hücreleri üzerinde *H. pylori* enfeksiyonunda FOX-M1 sentezi üzerindeki sinerjistik etkisinin antibiyotik tedavisiyle kıyaslanması.

P değerleri

Kontrol&ST+GA: P<0.05	AB& ST+GA: P<0.05
Kontrol&ST+LC: P<0.05	AB& ST+LC: P>0.05
Kontrol& GA+LC: P<0.05	AB& GA+LC: P>0.05
Kontrol&GA+AB: P<0.05	AB& GA+AB: P<0.05
Kontrol&ST+LC+AB: P<0.05	AB& ST+LC+AB: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC: P<0.05	AB& ST+GA+LC: P<0.05
Kontrol&ST+GA+LC+AB: P<0.05	AB& ST+GA+LC+AB:P>0.05

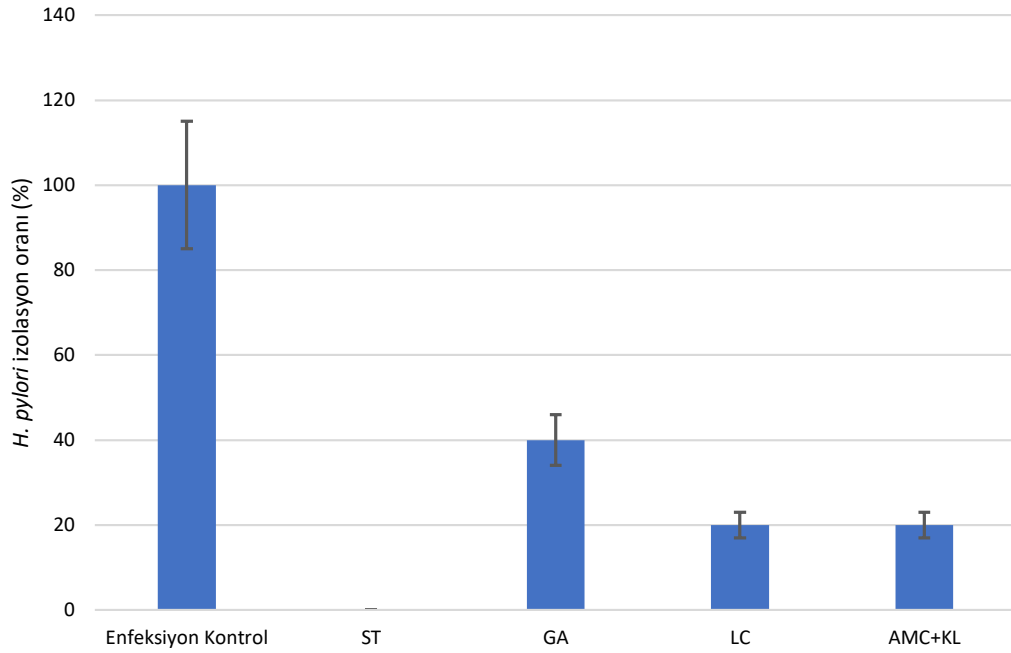
Fox-M1 gen ekspresyonu üzerinde kombine tedavi gruplarında da sadece iki grupta (*S. thermophilus* artı G. asit kombine tedavi grubu ve *S. thermophilus* artı G. asit artı *L. casei* tedavi grubu) kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma meydana gelirken diğer kombine tedavi gruplarının tümünde gen ekspresyonunda artışlar olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.32, 4.14).

4.3. Hayvan Deneyleri ve Histo-Patolojik Sonuçlar

In-vivo çalışmalarda sıçanların *H. pylori* ile enfeksiyonunu takiben tedavi sonunda mide doku örneklerinden alınan örneklerde *H. pylori* varlığı hem histopatolojik olarak hem de kültür izolasyonla değerlendirilmiştir.

H. pylori inokülasyonu yapıldıktan sonra tedavi verilemeyen sıçanların mide doku örneklerinin tamamından *H. pylori* izolasyonu yapılmıştır. Bunun yanında, mide dokusunda mukozal ve sub-mukozal bölgede şiddetli lenfosit ve lökosit infiltrasyonu ile yoğun ödem varlığı tespit edilmiştir.

Tekli tedavi gruplarından *S. thermophilus* tedavi grubunda yapılan histopatolojik değerlendirmede, submukozal bölgede hafıf ödem dışında mukozoda lenfosit ve lökosit infiltrasyonu tespit edilmedi. Sıçanların (0/5) hiçbirinde *H. pylori* varlığına rastlanmamış, kltive edilen tüm örneklerde *H. pylori* izolasyonu negatif bulunmuştur. G. asit tedavi grubunda ise sıçanların %40'ında (2/5) *H. pylori* izolasyonu yapılırken, bu hayvanların doku örneklerinin histopatolojik muayanelerinde orta derecede lenfosit varlığı ile düşük düzeyde lökosit infiltrasyonu tespit edildi. *L. casei* tedavi grubunda da benzer olarak hayvanların %40'ında *H. pylori* izolasyonu yapılmış, izolasyon yapılan hayvanların doku örneklerinde hafıf şiddette lenfosit infiltrasyonu tespit edilirken, mukozal ve submukozal bölgede lökosit infiltrasyonu ve ödem görülmemiştir. Antibiyotik tedavi grubunda ise hayvanların %20'sinde *H. pylori* izolasyonu yapılmış bu hayvanda lenfosit infiltrasyonunun varlığı tespit edilirken, lökosit infiltrasyonu ve submukozal ödem saptanmamıştır (şekil 4.33).

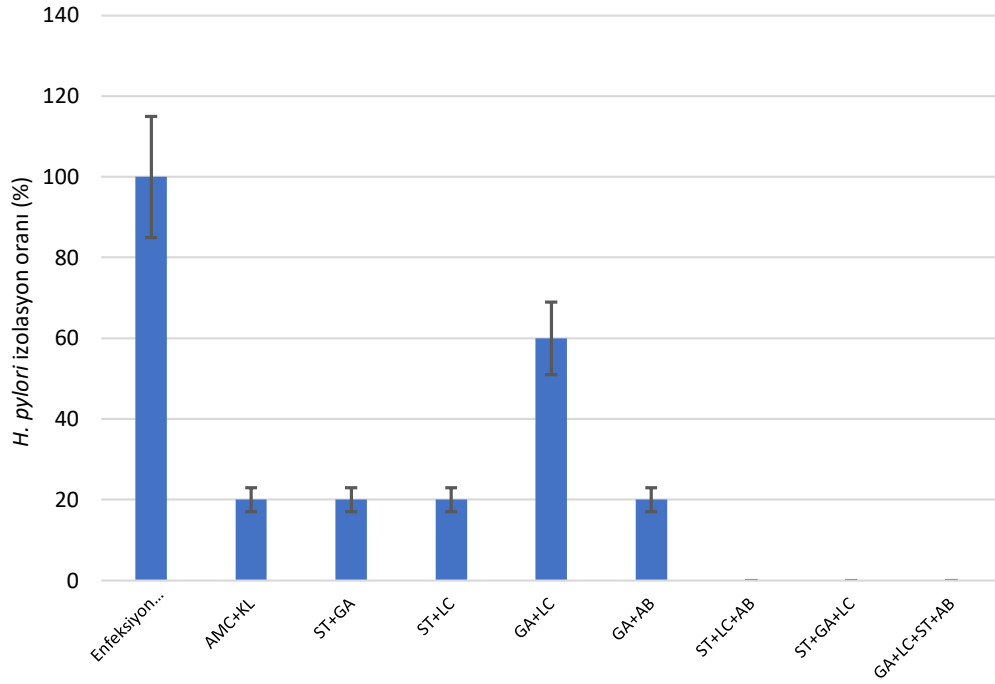


Şekil 4.33. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin *H. pylori* ile enfekte sıçanlarda tedavi sonunda izolasyon oranlarının kontrol grubuyla kıyaslanması.

İkili kombine tedavi gruplarındaki hayvanların mide doku numuneleri incelendiğinde *S. thermophilus* artı G. asit tedavi grubundan hazırlanan preperatlarda bir sıçanda *H. pylori* izoalsyonu yapılmış, mukozal ve submukozal lenfosit infiltrasyonu görülürken, nötrofil infiltrasyonu ve mukozal ödem tespit edilmemiştir. G. asit artı *L. casei* ikili kombine tedavi grubunda *H. pylori* izolasyon oranı yüksek idi. Hayvanların %60'ında bakteriyel izolasyon yapılmış, mukozal ödem, lenfosit ve lökosit infiltrasyonu olduğu da tespit edilmiştir. G. asit artı antibiyotik tedavi grubunda ise bir hayvanda *H. pylori* izolasyonu yapılmış ve mukozal ve submukozal lenfosik infiltrasyonu varlığı tespit edilmiştir.

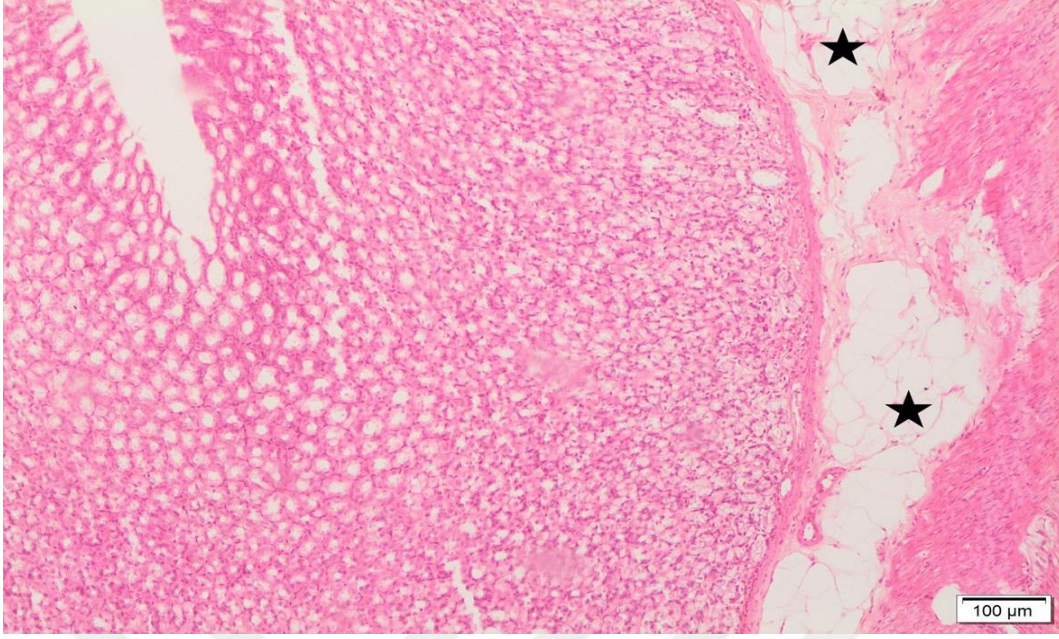
Üçlü kombine tedavi gruplarında yapılan histo-patolojik ve mikrobiyolojik incelemelerde ise anti-*H. pylori* etkinliğinin daha güçlü, histopatolojik iyileşmenin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik tedavi grubunda hayvanların hiçbirinde *H. pylori* izolasyonu yapılamamış, sadece orta şiddette mukozal ve submukozal lenfosit infiltrasyonuna rastlanılmıştır. *S. thermophilus* artı G. asit artı *L. casei* tedavi grubundaki farelerin mide doku örneklerinin hiçbirinde *H. pylori*'ye rastlanılmamıştır. Dokularda mukozal ve submukozal alanda orta şiddette lenfosit infiltrasyonu, hafif düzeyde de lökosit infiltrasyonu ve hafif ödem varlığı saptanmıştır.

Dörtlü kombine tedavi grubunda da *H. pylori* eradikasyonunun tam olduğu, hayvanların doku örneklerinin hiçbirinde *H. pylori* izole edilmemiş, dokularda mukozal ve submukozal ödem ve lökosit infiltrasyonu görülmezken, hafif lenfosit infiltrasyonun varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.34).



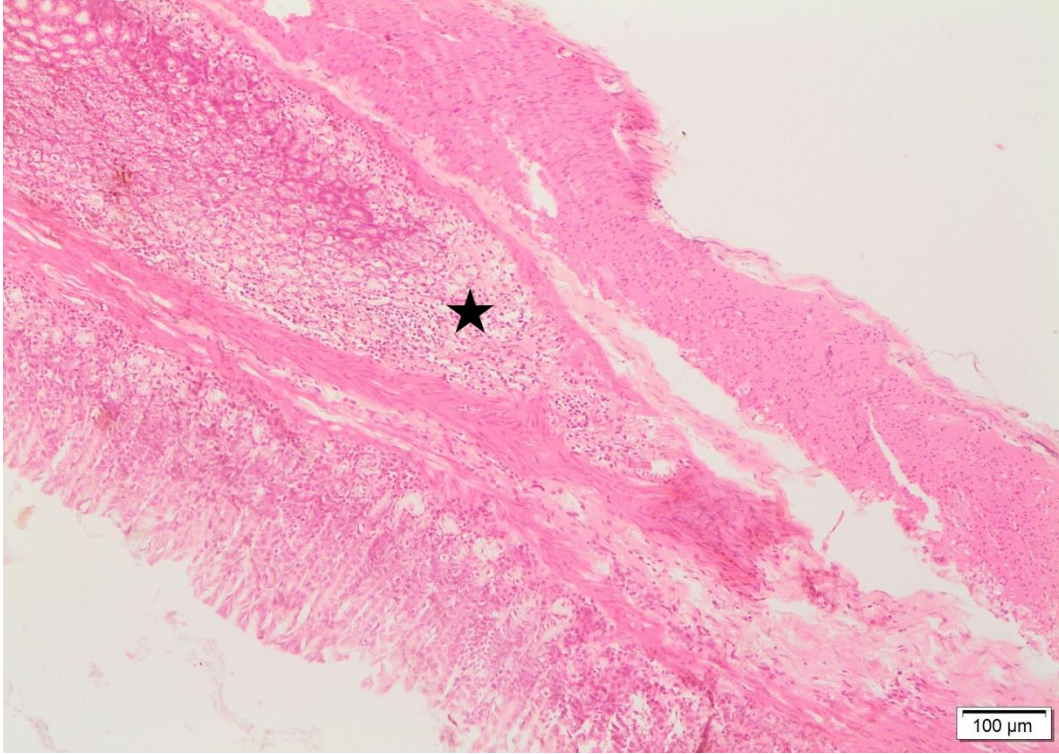
Şekil 4.34. G. asit, *S. thermophilus* ve *L. casei*'nin farklı kombinasyonlarının *H. pylori* ile enfekte sıçanlarda tedavi sonunda izolasyon oranlarının kontrol grubuyla kıyaslanması.

Tekli ve kombine tedavi gruplarından hazırlanan preperatların histopatolojik değerlendirmeleri sonunda *S. thermophilus* tedavi grubunda mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon ve mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu görülmezken hafif derecede submukozada ödem tespit edilmiştir (Şekil 4.35).



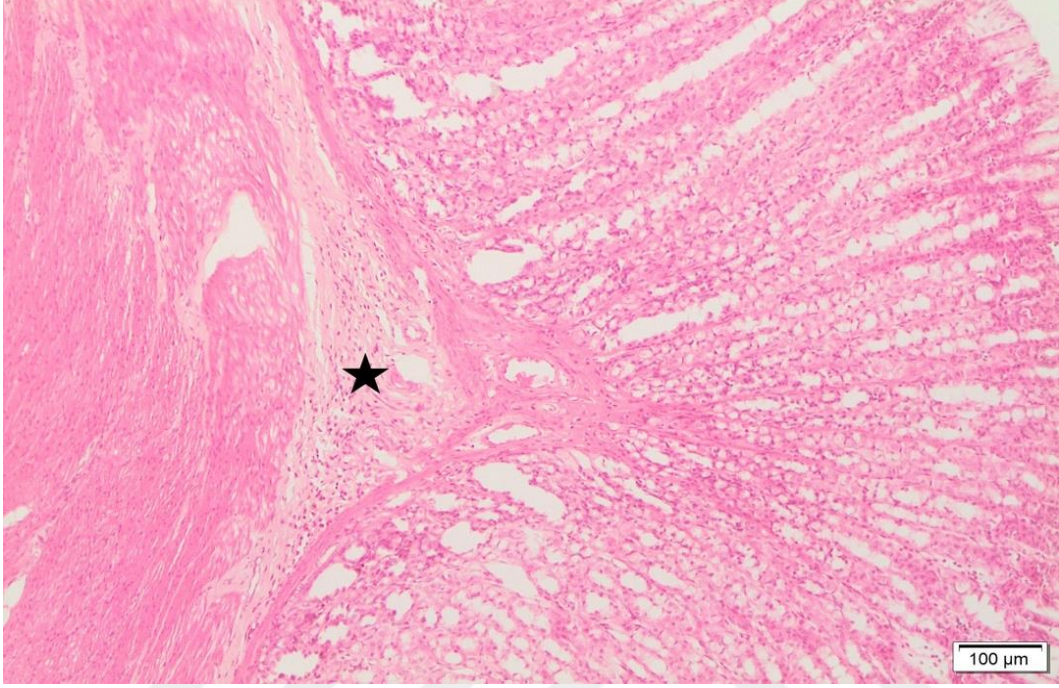
Şekil 4.35. *S. thermophilus* tedavi grubu: Submukozada hafif derecede ödem (yıldızlar), H×E.

Glycyrrhetic asit tedavi grubunda orta şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon ve hafif şiddette mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu tespit edilirken submukozada ödem saptanmadı (Şekil 4.36).



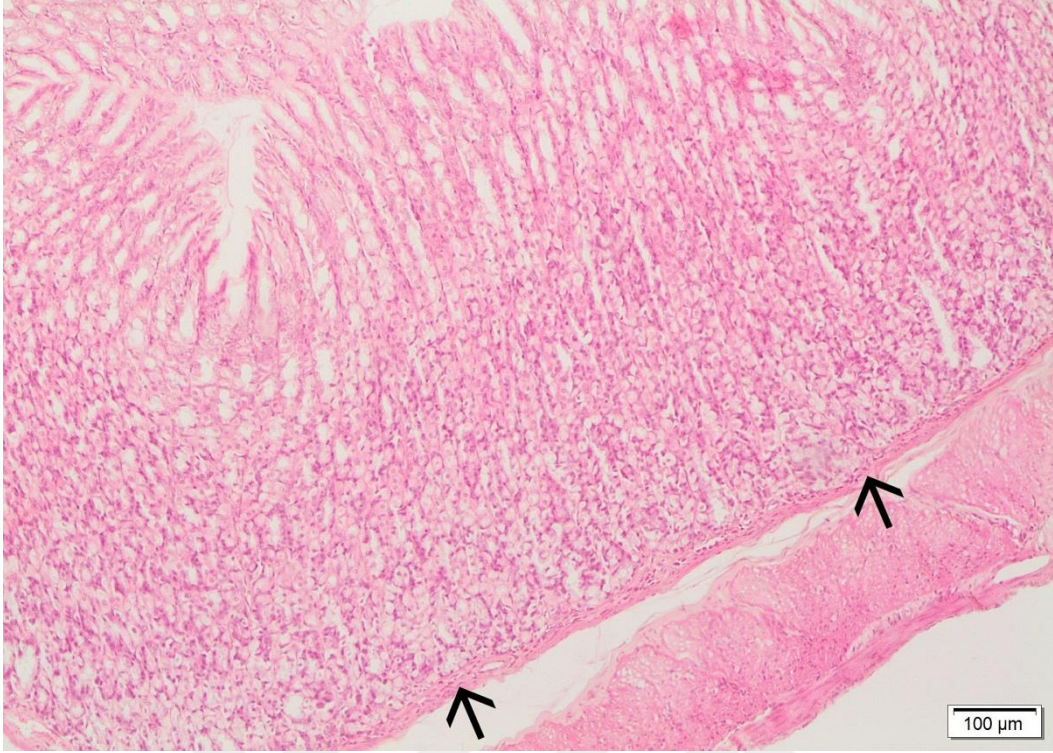
Şekil 4.36. Glycyrrhetic asit tedavi grubu: Submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (yıldız), H×E.

Lactobacillus casei tedavi grubunda hafif şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon tespit edilirken mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.37).



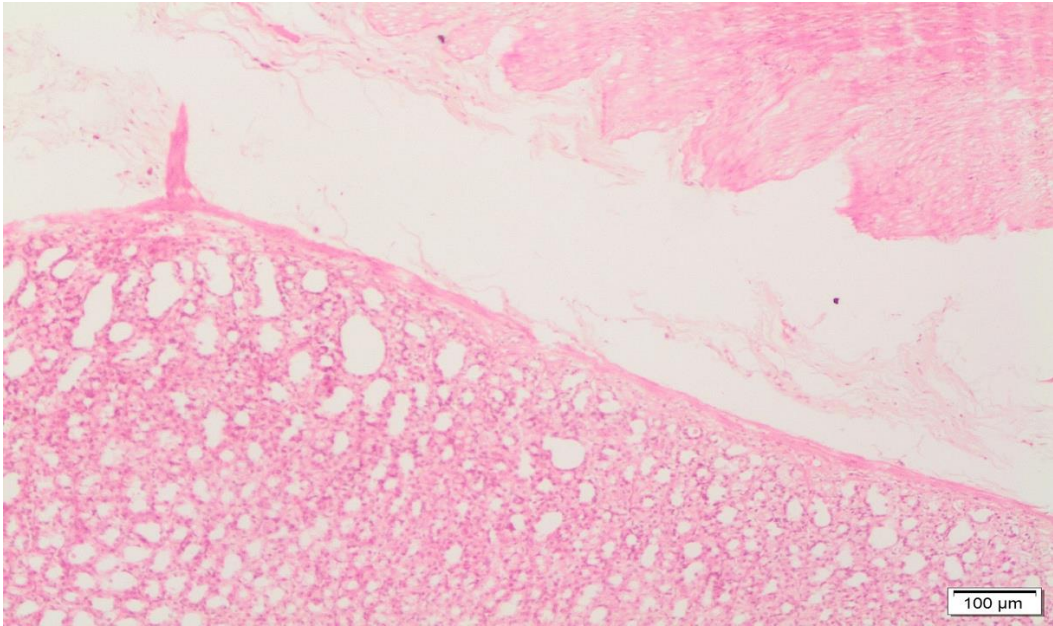
Şekil 4.37. *Lactobacillus casei* tedavi grubu: Submukozada hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (yıldız), H×E.

Antibiyotik (klaritromisin artı amoksisilin) tedavi grubunda hafif şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon tespit edilirken mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.38)



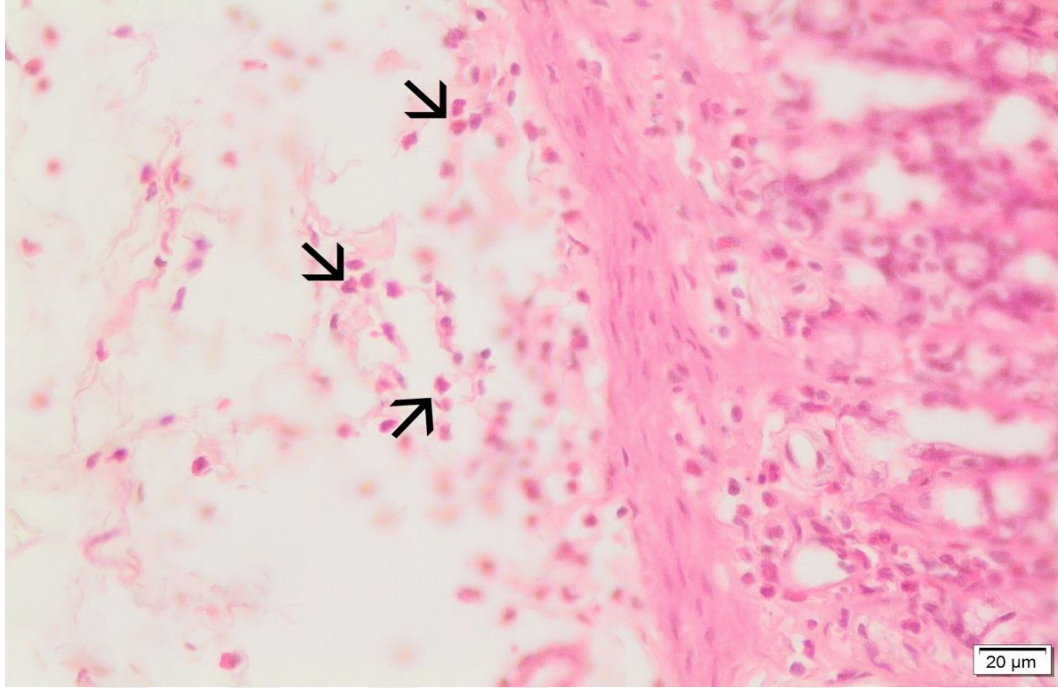
Şekil 4.38. Antibiyotik (klaritromisin artı amoksisilin) tedavi grubu, Hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (oklar) H×E.

S. thermophilus artı Glycyrrhetic asit tedavi grubunda mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.39.).



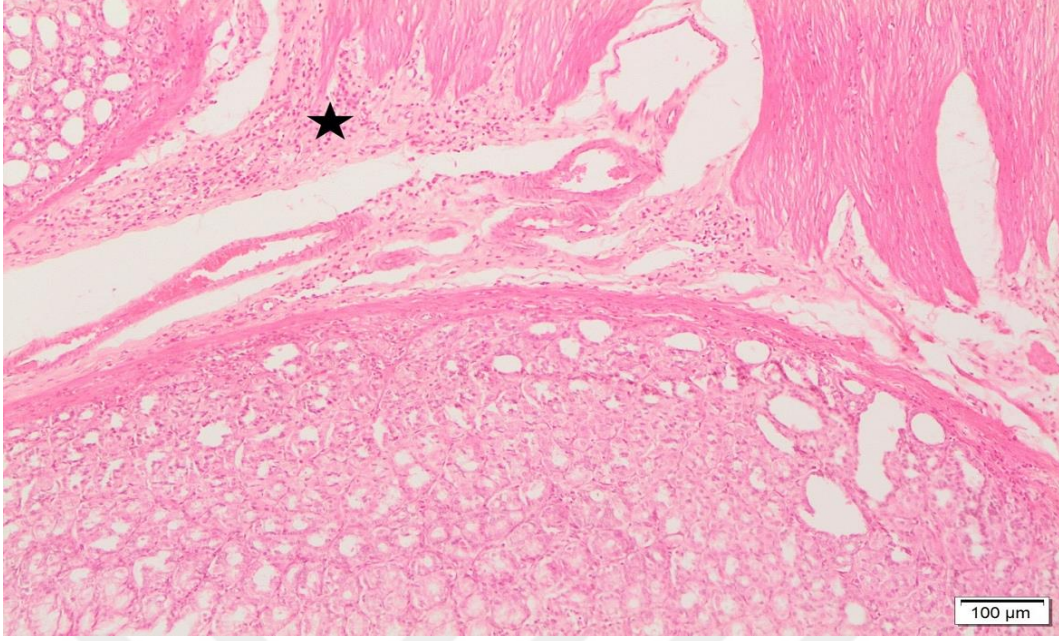
Şekil 4.39. *S. thermophilus* artı Glycyrrhetic asit tedavi grubu, Normal histolojik görünümde, H×E..

S. thermophilus artı *L. casei* (ST+LC) tedavi grubunda hafif derecede mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edildi (Şekil 4.40).



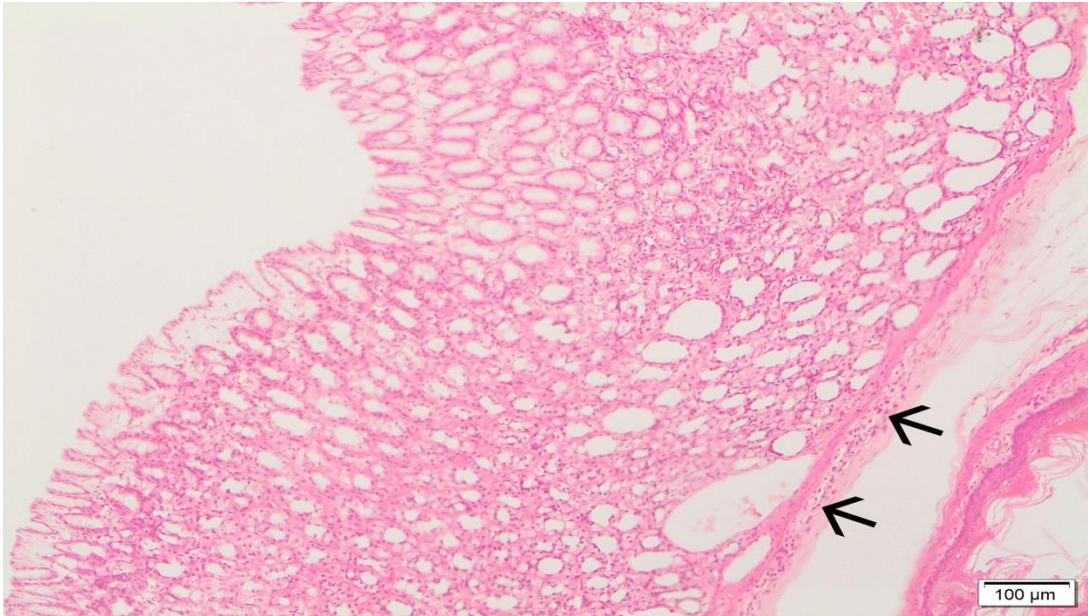
Şekil 4.40. *S. thermophilus* artı *L. casei* (ST+LC) tedavi grubu: Mukoza ve submukozada hafif derecede eozinofil lökosit infiltrasyonu (oklar), H×E.

G. asit artı *L. casei* (GA+LC) tedavi grubunda hafif şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon saptanırken mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.41).



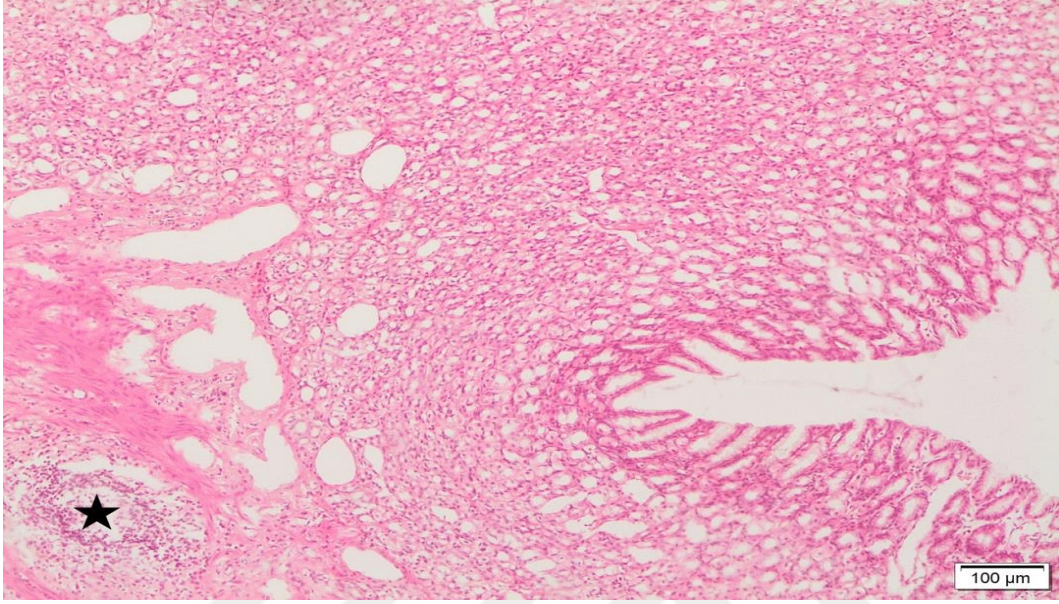
Şekil 4.41. G. asit artı *L. casei* (GA+LC) tedavi grubu: Submukozada hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon(yıldız), H×E.

G. asit artı Antibiyotik (GA+AMC+KL) tedavi grubunda hafif şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon tespit edilirken, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödeme rastlanmadı (Şekil 4.42).



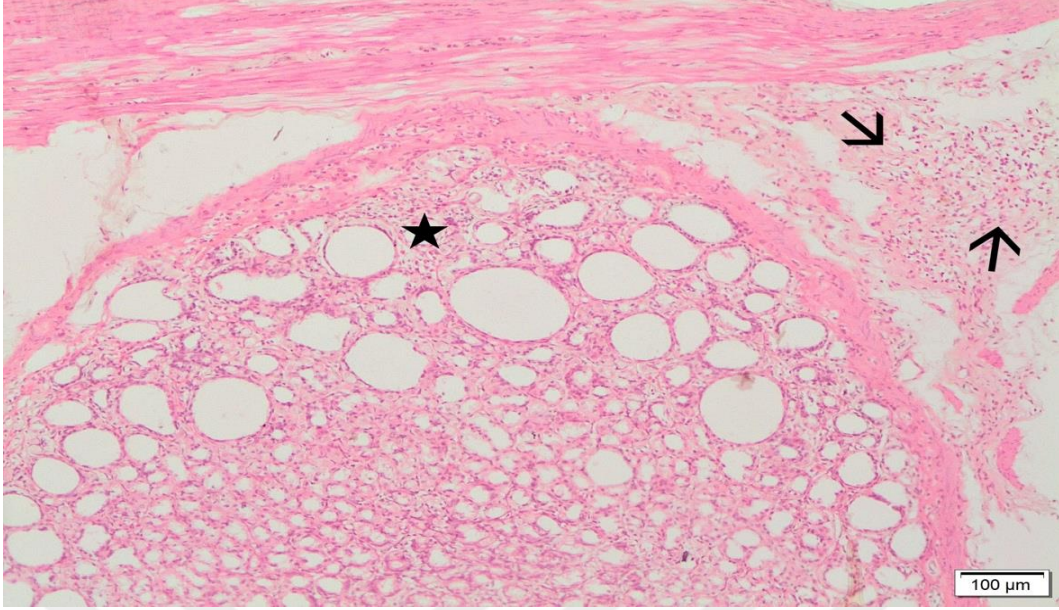
Şekil 4.42. G. asit artı Antibiyotik (GA+AMC+KL) tedavi grubu, Hafif derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (oklar).H×E.

S. thermophilus artı *L. casei* artı Antibiyotik tedavi grubunda orta şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon saptanırken, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.43).



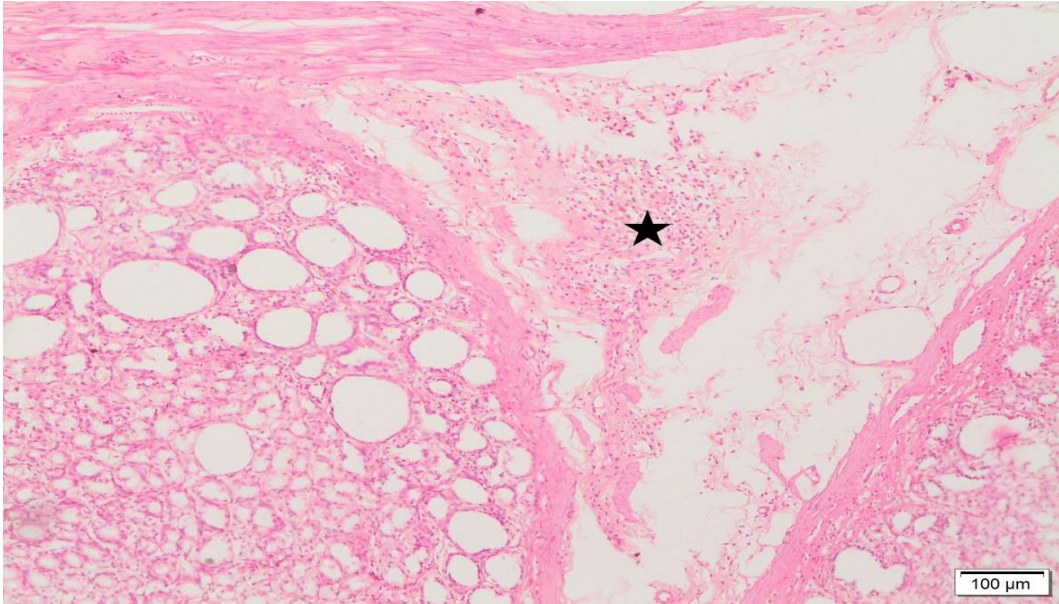
Şekil 4.43. *S. thermophilus* artı *L. casei* artı Antibiyotik tedavi grubu: Mukoza ve submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (yıldız), H×E.

S. thermophilus artı *G. asit* artı *L. casei* (ST+GA+LC) tedavi grubunda orta şiddette mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon tespit edilirken, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödemin hafif şiddette olduğu saptandı (Şekil 4.44.).



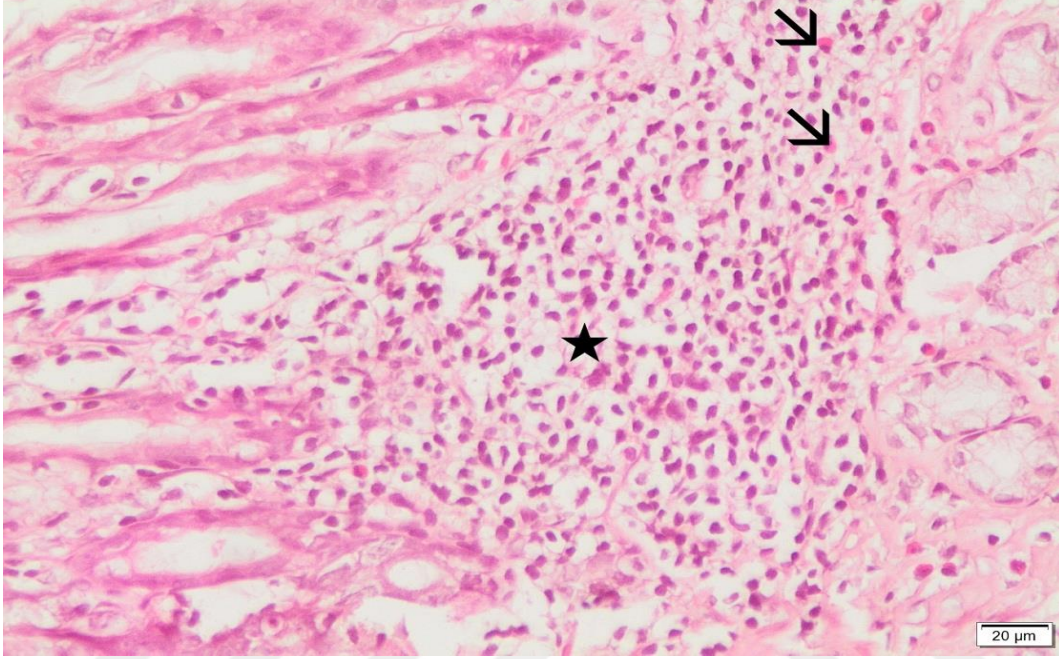
Şekil 4.44. *S. thermophilus* artı *G. asit* artı *L. casei* (ST+GA+LC) tedavi grubu: Mukoza (yıldız) ve submukozada (oklar) orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon, H×E.

G. asit artı *L. casei* artı *S. thermophilus* artı antibiyotik tedavi grubunda orta derecede mukozal ve submukozal lenfoplazmositik infiltrasyon gözlenirken, mukozal ve submukozal eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozal ödem tespit edilmedi (Şekil 4.45).

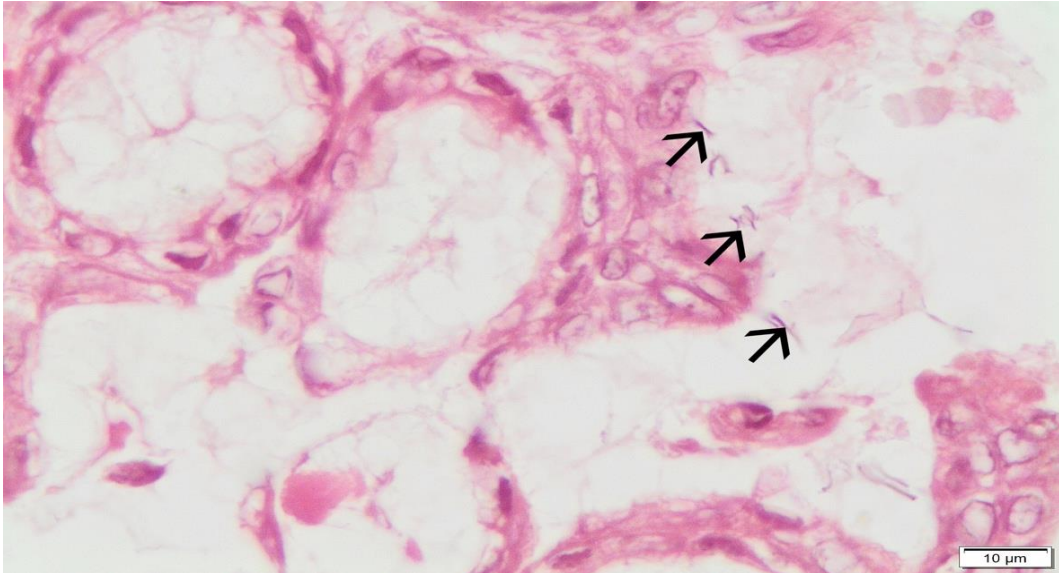


Şekil 4.45. *G. asit* artı *L. casei* artı *S. thermophilus* artı Antibiyotik tedavi grubu: Mukoza ve submukozada orta derecede lenfoplazmositik infiltrasyon (yıldız), H×E.

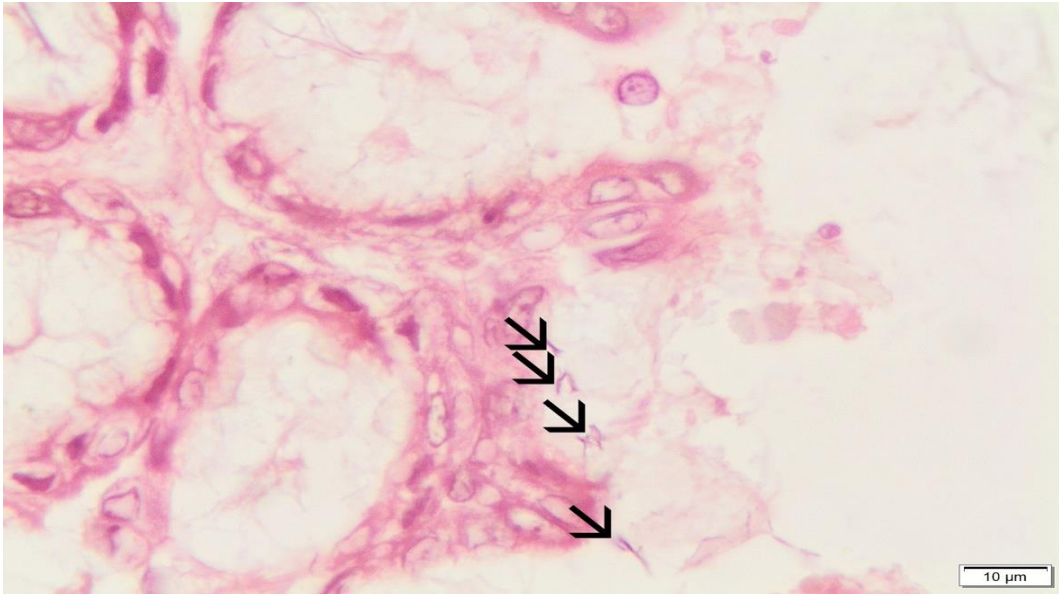
Enfeksiyon kontrol grubunda şiddetli derecede mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon gözlenirken, hafif derecede mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve orta derecede submukozada ödem tespit edildi (Şekil 4.46). Ayrıca *H. pylori* kolonizasyonu belirlendi (Şekil 4.47).



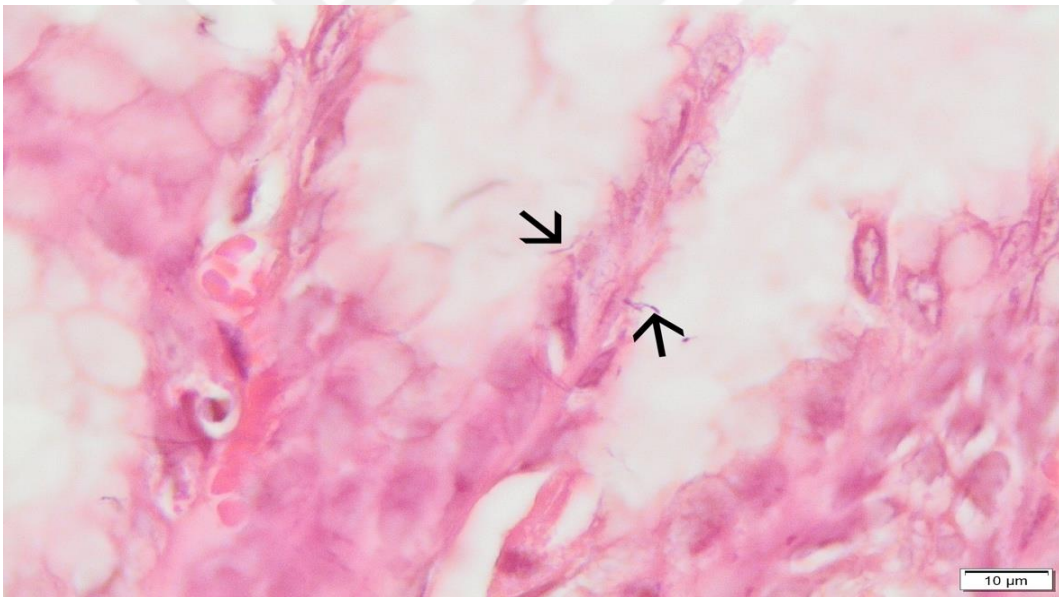
Şekil 4.46. Mukoza ve submukozada hafif derecede eozinofil lökosit infiltrasyonu (oklar) ve şiddetli lenfoplazmositik infiltrasyon (yıldız), H×E



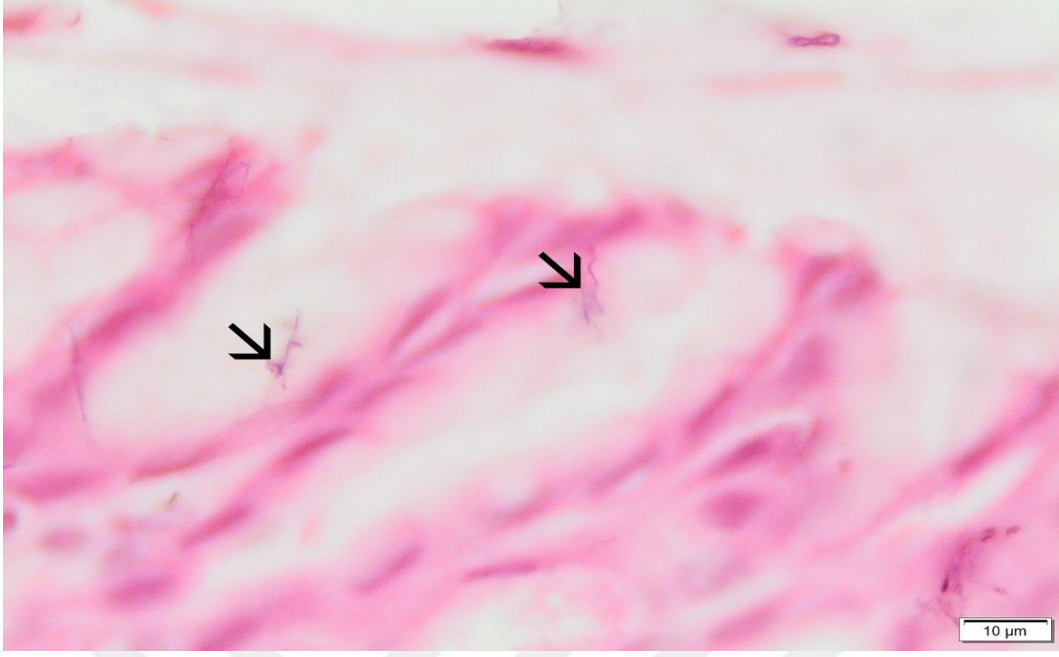
A



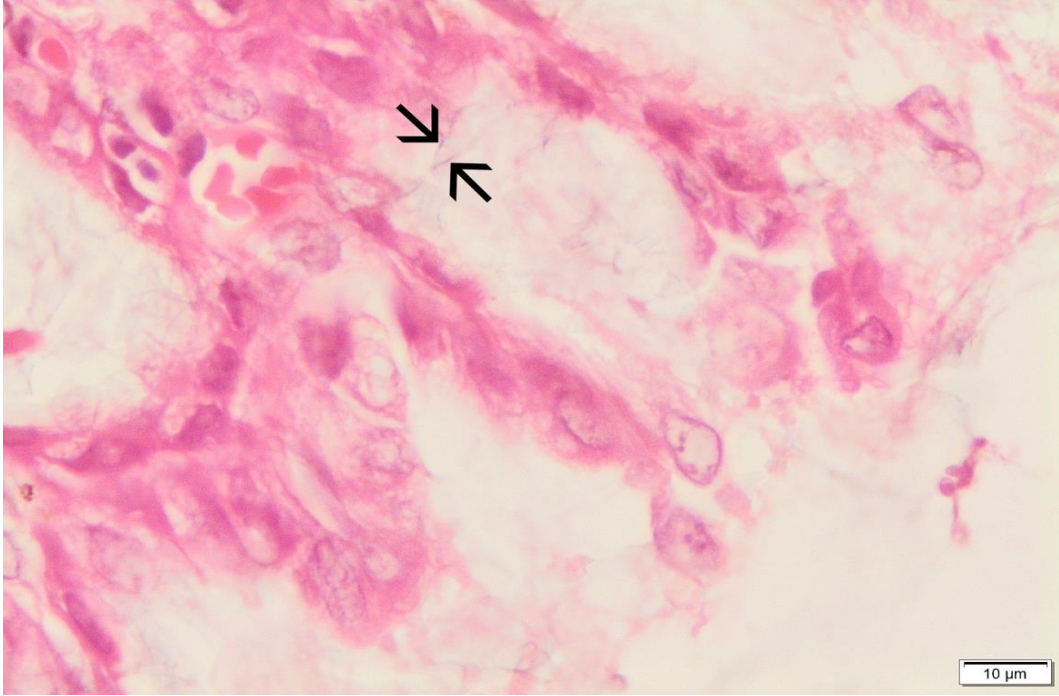
B



C



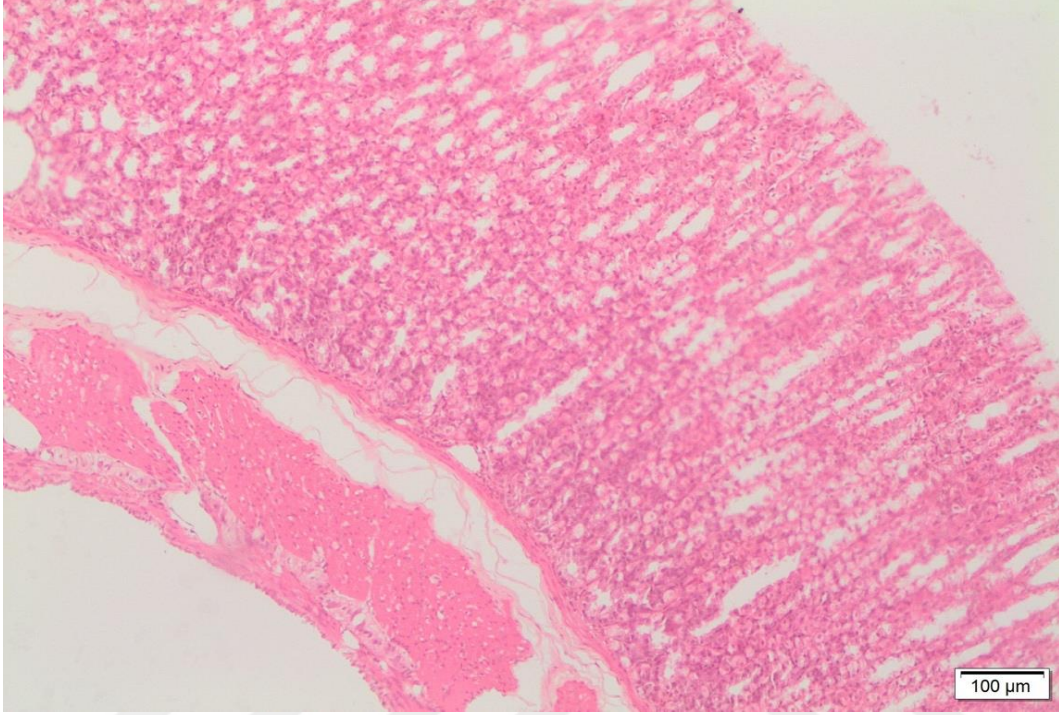
D



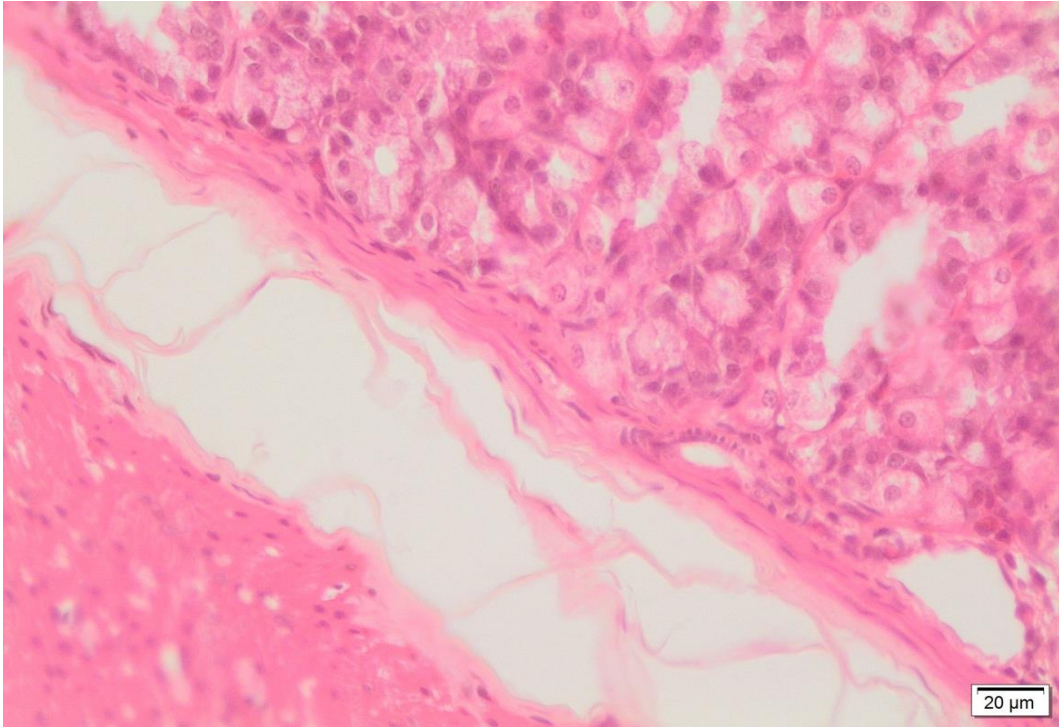
E

Şekil 4.47. A, B,C,D,E. *H. pylori* kolonizasyonu (oklar), Enfeksiyon kontrol grubu, 100×, H×E.

Negatif kontrol grubu (enfeksiyon oluşturulmayan sağlıklı kontrol)'nda mukoza ve submukozada lenfoplazmositik infiltrasyon, mukoza ve submukozada eozinofil lökosit infiltrasyonu ve submukozada ödem tespit edilmedi (Şekil 4.48).



A



B

Şekil 4.48. A ve B. Negatif kontrol grubu, H×E.

5. TARTIŞMA

H. pylori dünya nüfusunun yarısını enfekte eden Gram negatif bir patojendir. Mikroorganizma için çeşitli risk faktörleri tanımlanmış olup yaygınlığı coğrafi bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Enfeksiyon oral-oral veya fekal-oral yolla bulaşabilmektedir. Mikroorganizmanın patogeneğinde rol oynayan çeşitli virölans faktörleri (sitotoksin ile ilişkili antijen A, vakuolatör sitotoksin, duodenal ülseri teşvik eden gen A proteini, dış membran proteini ve gama-glutamil transpeptidaz gibi) bulunmaktadır. Bunun yanında konağa ait faktörler de enfeksiyon oluşumunda rol oynayan diğer önemli faktörlerdir. *H. pylori* pozitif bireylerin çoğu asemptomatik olarak kalsa da enfeksiyon peptik ülserler, mide adenokarsinomları ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfomaları gibi çeşitli hastalıkların gelişimine yatkınlık yaratmaktadır (Fischbach ve ark. 2018).

Günümüzde mikroorganizmanın antimikrobiyal tedavisi mevcut olsa da antibakteriyel direnç bu enfeksiyonun tedavisinde büyük bir zorluklar yaratmaktadır. Bu sebeple *H. pylori* eradikasyonunu gerçekleştirebilecek yeni tedavi alternatifler tedavi seçenekleri üzerinde çalışılmaktadır.

H. pylori enfeksiyonunun tedavisinde çeşitli antibiyotikler ve ilaçlar farklı kombinasyonlar halinde uygulanarak tedavi başarısının artırılması ve tedavide direnç sorununun çözülmesi hedeflenmektedir. Ne yazık ki, *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinde evrensel olarak kabul edilmiş bir tedavi rejimi mevcut değildir. Uygulanan tedavi yöntemlerinin tamamı enfeksiyon sürecinden zarar gören mukozanın semptomlarının azaltılmasını ve iyileşmesini hedeflemektedir. *H. pylori* tedavisinde 1997'den bu yana proton pompa inhibitörleri (PPI), klaritromisin (500 mg) ve amoksisilin (1 g) ile 7 gün boyunca günde iki kez standart üçlü tedavi çoğu ülkede birinci basamak rejim olarak kullanılmaktadır. Bu üçlü tedaviye bizmut ilavesiyle dördümlü tedavi rejimi de uygulanmaktadır. Ancak klaritromisine karşı mikrobiyal dirençteki artış tedavi protokollerinde değişikliklere yol açmış, klaritromisin direncinin yüksek olduğu bölgelerde tedavi protokölüne metronidazol eklenmektedir. Bunun yanında direnç oranlarındaki artışlar sebebiyle kinolonlar da eklenebilmektedir (Flores-Treviño ve ark. 2018). *H. pylori* tedavisinde tüm bu ilaçların kullanılmasına rağmen tedavi başarısındaki yetersizlikler sebebiyle yeni ilaç araştırmaları yeni yöntem arayışları devam etmektedir. Bu çalışmada *H. pylori*'ye karşı *in-vitro* etkinliğini daha önceki çalışmalarımızda gösterdiğimiz G. asit ile

probiyotik mikroorganizma biyokomponentlerinin anti-*H. pylori* etkinliği araştırılmıştır (Çelik ve Duran 2019).

Son yıllarda özellikle ilaç direncini yenmenin en önemli yollarından biri olarak gösterilen bileşiklerin kombine kullanımıyla antibiyotik direncinin üstesinden gelinmesi ve bileşiklerin kombine kullanımlarıyla daha güçlü sinerjistik etkinliklerin sağlanması hedeflenmektedir.

Sekonder metabolitler veya doğal ürünler olarak da bilinen özel bakteri metabolitleri birlikte yaşadıkları organizmalar arasındaki ilişkilere aracılık eden biyoaktif moleküllerdir (Wright 2017, Davies ve Ryan 2012). Bu moleküller prokaryotlarda ve ökaryotlarda fizyolojik etkiler ve adaptif yanıtlar ortaya çıkarmak için moleküler hedeflere bağlanabilmektedir (van der Meij ve ark. 2017, Ho L.K. ve ark. 2016). Bu biyoaktif metabolitler tıpta yaygın olarak özellikle de antimikrobiyal etkinlikleri sebebiyle kullanılmaktadır (Wright 2017).

Artan antimikrobiyal ilaç direnci sebebiyle bulaşıcı hastalık etkenlerine karşı terapötik kaynaklar olarak biyoaktif komponentlere son yıllarda artan bir ilginin olduğu bilinmektedir. Sekonder metabolitlerin özellikle sinerjik antimikrobiyal etkilerinin olabileceğinin çeşitli çalışmalarda gösterilmesi ilaç direnci krizine karşı umut verici bir çıkış olabilir (Wright 2017).

Sinerji, bileşiklerin kombinasyon halinde tekli aktivitelerinin toplamından daha fazla güçlü etkinlik sergilemesi olarak tanımlanmaktadır. Antibiyotik dirençli bakterilerin sayısındaki endişe verici artış ve enfeksiyonların tedavisindeki zorluklar, yeni antibakteriyel bileşiklerin arayışını başlatmış ve bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede yeni alternatif stratejiler geliştirilmesine yol açmaktadır.

Dođal ürünler antibiyotiklerle birleştiğinde etkinliklerini artıran antibiyotik direnci değiştirici bileşikler olarak doğrudan bir antibakteriyel aktivite ve/veya dolaylı bir aktivite sergileyebilir. Çođu zaman böyle kombinasyonların mikroorganizmanın direnç mekanizmasının değiştirilmesine veya bloke edilmesine sebep olduğu bildirilmiştir. Bu durum ise direnç sorununun azalmasına ya da ortadan kalmasına yol açabilmektedir. Dođada çok çeşitli bakteriyel veya bitkisel ürünün direnç değiştirici ajanlar olabileceği antibiyotiklerle sinerjistik etki gösterebilme potansiyeline sahip olduklarından bu tip doğal ürünlerin taranması bakteriyel direnç sorununun çözümünde potansiyel bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Stefanović ve ark. 2018).

H. pylori mide kanseri gelişiminde önemli bir etiyolojik faktördür. Çalışmalarda *H. pylori* enfeksiyonu ile hem kanser gelişimi hem de ilerlemesi arasındaki güçlü ilişki doğrulanmıştır. IL-8 *H. pylori* ile infekte mide mukozasında aşırı eksprese edilmektedir. IL-8'in ekspresyonu mide kanserinde kötü bir prognoz ile doğrudan ilişkilidir. IL-8 çok işlevlidir. Güçlü kemotaktik aktivitesine yanında kanser hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü de indükleyebilmektedir (Lee ve ark. 2013).

Gastrik kanserler insanlar için en ciddi seyirli kanser tiplerindendir. Mide kanseri riskinin diyet ve yaşam tarzındaki değişikliklerin olası bir sonucu olarak gelişebildiği bildirilmiştir. Peptik ülserler ile *H. pylori* arasındaki ilişkinin tanımlanmasından sonra korunmada bu mikroorganizmaya karşı strateji geliştirme odaklı olmuştur. Günümüzde mikroorganizmaya karşı antibiyotik tedavi mevcut olmasına rağmen hastalık ciddi seyrini sürdürmekte bu sebeple yeni tedavi arayışları, yeni yöntem geliştirme çalışmaları da yoğun olarak sürdürülmektedir (Lee ve ark. 2016).

Son yıllarda mide kanserinin prognozunun iyileşmesine rağmen mide kanserli hastalar için genel 5 yıllık sağkalım oranları %20-60 arasında değiştiği bildirilmektedir. Ne yazık ki, ölüm oranlarındaki yükseklik büyük hayal kırıklığıdır. Mevcut kombine kemoterapötik rejimler uzun süreli kullanıma bağlı olduğundan ciddi toksisite oluşturmaktadır. Tedavinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için yeni kemoterapötik kavramlar mide kanseri için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine odaklanılmıştır. Mide kanserinde invazyon ve metastazın ayrıntılı mekanizmalarının anlaşılması, tedavi sonucunu iyileştirmede yardımcı olacağı düşünülmektedir.

IL-8 prognostik ve prediktif bir kanser biyobelirteç olarak önemli bir potansiyele sahip sitokindir (Zeng ve ark. 2020). IL-8 başlangıçta konakta kanser gelişimi bir parçası olarak anjiyogenezi uyaran, anjiyojenik büyüme faktörlerinin salınımı sağlayan nötrofiller için bir kemo-atraktan madde olarak tanımlanmıştır. IL-8 endotel hücrelerinin proliferasyonunu, göçünü ve hayatta kalmasını arttırmakta, kanser hücrelerinin epitelyal-mezenkimal geçişini ve hayatta kalmasını güçlendirmekte ve tümör bölgesindeki makrofaj ve immün yanıtları da aktive etmektedir. IL-8, matriks metalloproteinaz (MMP)-2 ve MMP-9'un üretimini ve salgılanmasını arttırmakta, böylece kanser hücrelerinin invazyonunu modüle edebileceği bildirilmektedir (Saaed ve ark. 2021).

IL-8 inflamatuvar süreç sırasında nötrofilleri, bazofilleri ve T hücrelerini çeken kemotaktik bir faktördür. IL-8 nötrofil aktivasyonunda yer alan çok çeşitli hücreler

tarafından salınan bir sitokindir. Beta-tromboglobulin süper ailesinin bir üyesi olup yapısal olarak trombosit faktörü 4 ile ilişkilidir. IL-8 mitogeneze, anjiyogeneze inhibisyonu, inflamasyon, kemotaksis, nötrofil degranülasyonu, lökosit aktivasyonu ve kalsiyum homeostazında rol oynamaktadır (Jang ve ark. 2017).

Çalışmamızda *L. casei* ve *S. thermophilus* biyoproteinlerinin IL-8 ekspresyonunda azalmaya yol açtığı, bu azalmanın *S. thermophilus* tedavi grubunda anlamlı düzeyde olduğu tespit edilmiştir. G. asit tedavi grubunda IL-8 sentezi artışı olmazken, antibiyotik tedavi grubunda, IL-8 sentezinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum günümüzde *H. pylori* tedavisinde kullanılan antibiyotik kombinasyon tedavisinin IL-8 sentezinin artışa yol açması kanser progresyonu için bir tehdit oluşturabileceği anlamına gelebilir. Çalışmada en önemli bulgulardan birisi diğer sitokinlerde olduğu gibi *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik tedavi grubunda IL-8 sentezinin anlamlı derecede inhibe edilmesidir ki, yeni tedavi protokolleri oluşturmasında çok önemli olarak değerlendirilmiştir.

H. pylori enfeksiyonu sırasında konaktaki inflamatuvar süreç gastrit, diyabet, ateroskleroz ve kanser gibi çeşitli hastalıkların ve metabolik durumların gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. IL-1 β inflamatuvar reaksiyonların indüklenmesinden ve reaktif oksijen türlerinin üretiminden sorumlu anahtar bir inflamatuvar sitokin olarak kabul edilmektedir. Bu sitokin bağışıklık fonksiyonuna aracılık etmede kritik roller oynamasına rağmen, kronik inflamatuvar hastalıklarda artan ekspresyonunun da ve doku hasarına neden olabileceği bildirilmektedir (Ren ve ark. 2019). Ayrıca, IL-1'in güçlü pirojenik aktiviteden sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu aileden IL-1 β inflamatuvar sinyallere yanıt olarak çok sayıda farklı immün ve immün olmayan hücre tipi tarafından üretilmektedir. IL-1 β bağışıklık reaksiyonlarının bir tetikleyicisi olarak görev yapmaktadır (Dinarello 2014). Kronik inflamasyon durumunda sürekli IL-1 β salınımının hem tümör indüksiyonunu hem de daha sonra farklı mekanizmalarla tümör yayılımını tetikleyebileceği de bildirilmiştir. İlginç olarak çalışmalarda anti-tümör terapötik ajanların IL-1 β üretimini indüklediği de gösterilmiştir (Garlanda ve ark. 2013).

Akut inflamasyon sırasında indüklenen IL-1, lökositlerin enfeksiyon bölgelerine sızabilmesi için bir ön koşul olarak immün ve endotel hücreleri üzerindeki yapışma reseptörlerinin salınımını arttırmaktadır. Bu bağlamda IL-1 β 'nin kilit rolü nötrofil aracılı eradikasyonunun kritik IL-1 sinyaline bağlıdır (Kuldo ve ark. 2005, Miller ve ark. 2006).

IL-1 β 'nin enfeksiyonların temizlenmesindeki yararlı rolünün yanı sıra, bu sitokinin ayrıca inflamatuvar hastalıkların şiddetine katkıda bulunduğu da bildirilmiştir. Yüksek IL-1 sinyalinin nöronal hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, epilepsi, felç, Alzheimer hastalığı ve diğer nörolojik bozukluklardan yüksek IL-1 β üretimi görülmüş, romatoid artrit ve gut artrit, tip 2 diyabette ve otoimmün hastalıkların önemli bir aracısı olduğu da bildirilmiştir (Dinarello 2013, Abbate ve ark. 2014).

IL-1 β inflamasyonun önemli bir aracısı olduğundan dolayı karsinogenez ve tümör gelişiminde anahtar bir rol oynamaktadır. Vücut sıvılarında artan IL-1 β seviyelerinin kötü prognozlu kanser hastalarında, karsinogenez ve tümörün invazivliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. IL-1 β 'nin tümör gelişimini desteklediği kilit mekanizmaları, kronik inflamasyonu, endotelial hücre aktivasyonunu, tümör anjiyogenezisini ve immünosupresif hücrelerin indüklenmesi olduğu bildirilmiştir. Bu mekanizmaların tümü adaptif bağışıklığın baskılanmasına, tümör gelişiminden ve metastazdan sorumlu tutulmaktadır. Dolayısıyla kronik inflamasyonun çözülmesi kanser progresyonunun önüne geçilmesinde oldukça önemlidir (Mantovani ve ark. 2018). Çalışmamızda gastrik karsinoma ile ilişkili olan *H. pylori* ile enfeksiyonlarında IL-1 β gen ekspresyonunun tüm bileşikler ve antibiyotik tedavi grubunda azalma eğiliminde olduğu tespit edilirken, bu azalmanın G. asit ve antibiyotik tedavi grubundan anlamlı olmadığı, *S. thermophilus* ve *L. casei* tedavi grubunda anlamlı düzeyde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu etkinliğin kombine tedavi gruplarında daha da artmış olduğu görülmektedir. En güçlü aktivite *S. thermophilus* artı *L. casei* biyoproteinlerinin kullanıldığı tedavi grubunda ve dörtlü kombine tedavi grubunda da tespit edilmiştir. Bu iki tedavi gruplarında IL-1 β salınımının oldukça güçlü inhibe edildiği tespit edilmiştir. Burada ilginç olan G. asit tekli olarak kullanıldığı tedavi grubunda IL-1 β sentezinde anlamlı bir azalma meydana getirmezken, *L. casei* ve antibiyotiklerle kombine kullanıldığında IL-1 β salınımının anlamlı düzeyde inhibe etmiştir (Şekil 4.21 ve 4.22.). Bu durum güçlü bir sinerjizm olarak değerlendirilmiştir.

Enfeksiyonlara ve doku yaralanmalarına yanıt olarak hızlı ve geçici olarak üretilen IL-6 akut faz yanıtlarının, hematopoezin ve immün reaksiyonların uyarılması yoluyla konak savunmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu genin ekspresyonu transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmesine rağmen, IL-6'nın düzensiz sürekli sentezi, kronik inflamasyon ve otoimmünite üzerinde patolojik bir etkiler meydana getirebilmektedir (Tanaka ve ark. 2014).

IL-6 hemen hemen her organ sisteminin fizyolojisinde yer alan bir pleiotropik sitokindir. IL-6'nın, IL-17 üreten Th17 hücreleri ile düzenleyici T hücreleri (Treg) arasındaki dengenin regülasyonunda çok önemli bir rolü olduğunu gösterilmiştir. Th17 hücresi, otoimmün hastalıkların patogenezinde ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı korumada kilit bir rol oynarken, Treg aşırı efektör T hücresi tepkilerini sınırlamak için işlev görmektedir. IL-6'nın düzensizliği veya aşırı üretiminin Th17 hücrelerinin patolojinin birincil nedeni olarak kabul edildiği multipl skleroz (MS) ve romatoid artrit (RA) gibi otoimmün hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir. IL-6 aktivitelerinin kontrol edilmesi çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak etkili bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Tanaka ve ark. 2014).

IL-6, T hücreleri, B hücreleri ve lenfoid olmayan hücreler gibi lenfoid hücreler, monositler, fibroblastlar, endotel hücreler, epitel hücreleri, çeşitli tümör hücreleri ve ayrıca adipoz hücreleri gibi birçok hücre tipi tarafından üretilmektedir (Kamimura ve ark. 2003). IL-6'nın normal fizyolojik koşullar altında ekspresyonu sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (Chalaris ve ark. 2011). IL-6'nın ifadesi, çeşitli sinyallere yanıt olarak yüksek oranda indüklenebilir. IL-6 salınımını tetikleyen uyaranlar arasında lipopolisakkaritler ve diğer bakteriyel ürünlerle antijenik uyarm, viral enfeksiyon, protein kinaz C'yi aktive eden ajanlar, hücre içi cAMP'yi artıran ajanlar, IL-1, trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi çeşitli sitokinler sayılabilir. Öte yandan glukokortikoidler IL-6 gen ekspresyonunu aşağı regüle ederek inflamatuvar yanıt üzerinde negatif uyarm sağlamaktadır (Rose-John 2018).

Bizim çalışmamızda *S. thermophilus*, *L. casei* ve G. asit tedavi gruplarında IL-6 sentezinin kontrol grubundan anlamlı derecede daha düşük bulunması inflamatuvar yanıtın kontrol alındığını göstermektedir. Antibiyotik tedavi grubunda ise kontrol grubu ile anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.23.). Kombine tedavi gruplarında ise en önemli aktiviteyi *S. thermophilus* artı G. asit, *S. thermophilus* artı *L. casei* ve *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit tedavi grubunda tespit edilmiştir. Antibiyotikle bu üçlü bileşiklerin kombine edildiği dördü tedavi grubunda da IL-6 sentezinin anlamlı derecede inhibe edildiği saptanmıştır (Şekil 4.24). Konvansiyonel kemoterapötik tedavi ile bu bileşiklerin kombine edilmesi durumunda inflamatuvar yanıtın başarıyla kontrol altına alınabileceği tespit edilmiştir. Bu kombinasyonun antibiyotik başarısının artırılması için oldukça verimli olacağını düşünmekteyiz.

H. pylori enfeksiyonunda yüksek inflamatuvar yanıtın dindirilmesi hasta refahı ve tedavi başarısı ile doğrudan ilişkilidir. İnterleukin 10 (IL-10) insan bağırsak bağışıklık reaksiyonlarının aşağı (down) regülasyonunda yer alan bir anti inflamatuvar peptittir. *H. pylori* enfeksiyonunda artan inflamatuvar yanıtı azaltmak için IL-10 sentezinin arttığı bildirilmiştir (Rizzuti ve ark. 2015). Bakteriyel kolonizasyon, adezyon ve invazyonu takiben artan hücrel immun yanıtın regüle edilmesi kanser progresyonu açısından da son derece büyük öneme sahiptir bu sebeple inflamasyonu indirgeyici etkisiyle gastrik *H. pylori* enfeksiyonunda salınımı önemlidir. Çalışmamızda *L. casei* ve antibiyotik tedavi grubunda IL-10 sentezinin kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir yükselme görülmezken, G. asit ve özellikle de *S. thermophilus* tedavi grubunda IL-10 sentezinde anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.27). İlginç olarak bileşiklerin ikili üçlü ve dörtlü kombinasyonlarının yapıldığı tüm tedavi gruplarında antibiyotik tedavi grubuyla kıyaslandığında IL-10 ekspresyonunda anlamlı bir artışın olduğu saptanmıştır. Özellikle G. asit artı *L. casei* ve *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik dörtlü kombine tedavi grubunda IL-10 ekspresyonunda güçlü sinerjistik etkinlikler tespit edilmiştir (Şekil 4.28). Bu durum yeni tedavi yaklaşımları veya mevcut konvansiyonel terapi yöntemlerinin iyileştirilmesinde son derece önemli olarak değerlendirilmiştir.

H. pylori enfeksiyonu sırasında önemli rolü olan immün araçılardan biri de TNF-alfa'dır. TNF- α başlangıçta tümörlerin nekrozuna neden olan bir serum faktörü olarak alınan bir sitokindir ve enfeksiyon hastalıklarına karşı konak savunmasında önemli bir rol üstlenirken, aşırı ekspresyon ürünü organ yetmezliğine ve mide kanseri riskini değiştirebilecek güçlü bir inflamatuvar yanıtı açabilmektedir. Artmış TNF- α *H. pylori* ile ilişkili gastroduodenal hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. *H. pylori* kronik gastrit, peptik ülserler, mide mukozası ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve mide kanseri gibi çeşitli mide hastalıklarının gelişimi için güçlü bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. *H. pylori* ile epitel hücreleri arasındaki bu tür gelişime katkıda bulunur. *H. pylori* enfeksiyonu, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu ile ilişkili mide mikroçevresinde inflamasyonu indüklemekte bu da mide karsinogenezini daha elverişli bir duruma getirmektedir (Suganuma ve ark. 2021). Bu sebeple bu sitokinlerin tedavi sırasında kontrollü salınımı veya inhibisyonu önem taşımaktadır. Deneylerde *S. thermophilus* ve *L. casei* tekli tedavi gruplarında anlamlı derecede TNF- α sentezinin inhibe edildiği, G. asit ve antibiyotik tedavi grubunda ise bu gen ekspresyonunun kontrol grubuyla anlamlı farkların

olmadığı tespit edilmiştir. Kombine tedavi gruplarında ise bileşiklerden *S. thermophilus* artı *L. casei* grubunda anlamlı bir sinerji tespit edilmezken, G. asit artı antibiyotik tedavi grubunda ve dördütlü tedavi grubunda (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik) TNF- α sentezinin inhibisyonunda güçlü bir sinerjizm olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçların konvansiyonel terapiyi iyileştirmede büyük öneme sahip olacağını düşünmekteyiz (Şekil 4.19 ve 4.20).

H. pylori ile enfeksiyon kronik atrofik gastrite neden olmakta ve gastrik kanser gelişimde bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünü katalize eden bir enzim olan siklo-oksijenaz-2'nin (COX-2), *H. pylori* ile ilişkili mide karsinogenezinde rol oynamaktadır. *H. pylori* COX-2 aşırı ekspresyonunu indükleyebilmektedir. Gastrik karsinom ve premalign lezyonlarda COX-2 ekspresyonun yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bir COX-2 inhibitörü ile müdahalenin *H. pylori* ile ilişkili karsinogenez sürecini inhibe etmesi veya tersine çevirmesi beklenmektedir. NSAID kullanımının gastrik kanser de dahil olmak üzere gastrointestinal kanser riskinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. Literatürde gastrik kanser dışındaki kanserlerde (kolon, akciğer, meme ve prostat) de COX-2 inhibitörü kullanımının kanser riskini önemli ölçüde azaltabildiğini bildirilmiştir. Dolayısıyla COX-2 sentezinin inhibisyonu kanser progresyonunun inhibisyonu için önem taşımaktadır.

Çalışmamızda antibiyotik tedavi grubunda kontrol grubuyla kıyaslandığında COX-2 sentezinin artması kombine antibiyotik tedavisinin kanser progresyonu doğrultusunda bir oluşumu engellemeye yardım olmadığı gibi yatkınlaştırıcı faktör olabileceği şeklinde de değerlendirilmiştir. Bunun yanında G. asit tedavi grubunda anlamlı bir artış olmasa da azalmanın olmadığı tespit edilirken, *L. casei* tedavi grubunda bir azalma, özellikle de *S. thermophilus* tedavi grubunda oldukça önemli COX-2 ekspresyonunda inhibisyon görüldüğü tespit edilmiştir. Kombine tedavi gruplarında ise *S. thermophilus* artı G. asit tedavi grubu dışındaki tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde COX-2 gen ekspresyonu inhibisyonunun gerçekleştiği tespit edilmiştir ki, özellikle antibiyotik tedavisine bu bileşiklerin eklenmesinin kanser oluşma riskini önemli ölçüde azaltacağını düşünmekteyiz.

Gastrik kanser oldukça heterojen bir hastalıktır. Dünyada kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir. Aynı zamanda yaygın bir gastrointestinal malign tümördür ve malign tümörler arasında ise dördüncü ölüm nedenidir. Gastrik kanser tedavisi için kemoterapi,

radıyoterapi ve cerrahideki son gelişmelere rağmen hastaların sağkalım oranı hala istenilen oranlarda değildir (Mirando-Filho ve ark. 2020, Zhu ve ark. 2020, Ruan ve ark. 2020). FOX-M1 proteininin malignitelerde onkogenez ve tümör progresyonunun regülasyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir (Chong ve ark. 2018). Tümörlerin çoğunda aşırı eksprese eden bir transkripsiyonel faktör olan FOX-M1'in kanser hücresi proliferasyonunda, migrasyonda ve apoptozda önemli rolleri bulunmaktadır (Okada ve ark. 2013). FOXM1'in sinyal yollarındaki değişikliklere yol açarak tümör oluşumunda rol oynadığı hatta, mide kanseri için prognostik bir marker olduğu bildirilmiştir (Wu ve ark. 2018, Chong ve ark. 2018). FOX-M1'in aşırı ekspresyonunun hücre çoğalmasını ve anjiyogenezi tetiklediği de bildirilmiştir (Ai ve ark. 2020). Bu sebeple FOX-M1 protein sentezinin inhibisyonu kanser progresyonunun önüne geçilmesinde büyük öneme sahiptir.

Çalışmamızda *S. thermophilus* ve *L. casei* tedavi gruplarında FOX-M1 ekspresyonunu anlamlı düzeyde inhibe edildiği tespit edilirken, G. asit ve antibiyotik tedavi grubundan bu gen ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (Şekil 4.31). Kombine tedavi gruplarında *S. thermophilus* artı G. asit tedavi grubunda ve *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit tedavi gruplarında FOX-M1 ekspresyonundan anlamlı derecede inhibisyon tespit edilirken, diğer gruplarda FOX-M1 gen ekspresyonunu arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.32).

İnsanda tümör oluşumu ve gelişimiyle ilgili olduğu bildirilen sitokinlerden bir diğeri ise IL-1 sitokin ailesinin bir üyesi olan IL-33'tür. Bu sitokin gastrointestinal kanal epitel onarımı ve restorasyonunda rol oynayarak mukozal iyileşmeyi teşvik etmektedir. IL-33 birçok dokuda geniş ölçüde eksprese edilmektedir, ancak ekspresyonu hücre tipi ile sınırlıdır. IL-33'ün neoplazideki rolü yeterince araştırılmamış olsa da farklı çalışmalarda hem pro- hem de anti-tümörjenik fonksiyonları bildirmiştir. Özellikle IL-33'ün kanser hücre dizilerinde protümörjenik bir fonksiyona sahip olduğu, invazyon, migrasyon ve ilaç direncine sebep olabileceği bildirilmiştir (Chmiela ve ark. 2020). *H. pylori* ile enfekte hastaların mide mukozasında IL-33'ün artan ekspresyonu da bu sitokinin protümörjenik etkisinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. IL-33 seviyesi enfeksiyonun akut fazında, kronik faza kıyasla daha yüksektir (Buzelli ve ark. 2015). IL-33'ün *H. pylori* enfeksiyonunun patogenezindeki rolünü anlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm gruplarda IL-33 gen ekspresyonu seviyesinde bir azalış eğiliminin olduğu, *S. thermophilus*, *L. casei* ve G. asit tedavi gruplarında bu azalma anlamlı iken antibiyotik tedavi grubunda anlamlı bir azalma tespit

edilmemiştir. Antibiyotik tedavi grubunda IL-33 seviyesinde anlamlı azalmanın olmamasını aktif inflamasyonu yüksekliği olarak değerlendirilmiş, diğer tedavi gruplarındaki antibakteriyel aktiviteden daha düşük olmasından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz (Şekil 4.29). Kombine tedavi gruplarında ise antibiyotik ile kombine edilerek uygulanan tedavilerde IL-33 ekspresyonunda anlamlı bir azalma meydana gelmediği tespit edilmiştir. Tedavi gruplarında IL-33 ekspresyonunun artışıların olmaması hastalığın akut döneminin bittiği ve iyileşme fazına geçildiği şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 4.30).

Konakta tüm immonolojik reaksiyonlarda etkin rolü olan NF- κ B'nin *H. pylori* enfeksiyonu progresyonunda önemli rolleri bildirilmiştir. NF- κ B'nin çok çeşitli fonksiyonlarının olduğu bilinmektedir. Bir grup fonksiyonuyla antiapoptozisi, proliferasyonu ve anjiyogenezi arttırdığı diğer grup fonksiyonlarıyla da immun reaksiyonları baskılayıcı fonksiyonları bulunmaktadır. Bu gen hem kanser gelişimi hem de inflamasyon süreçlerinde kritik rollere sahiptir (Peng ve ark. 2020).

Mide kanserinin gelişimi çevresel, konakçı ile ilgili ve beslenme faktörlerini içeren çok faktörlü bir süreçle alakalıdır. Dünya nüfusunun yarısından fazlasının enfekte olduğu *H. pylori* 'yi WHO tarafından sınıf I kanserojen olarak nitelendirmektedir. *H. pylori* kronik gastritten kronik atrofik gastrit, bağırsak metaplazisi, atipik hiperplazi ve mide kanserine kadar bir dizi histolojik değişikliğin başlatan etkidir (Ferlay ve ark. 2012, Torre ve ark. 2016, Plummer ve ark. 2015). *H. pylori* ile kronik enfeksiyon çeşitli proinflamatuvar sinyalizasyonu aktive etmektedir. NF- κ B karsinogenez sırasında aktive olan başlıca proinflamatuvar yollar arasındadır. NF- κ B mide kanserinde yapısal olarak aktive olan bir transkripsiyonel faktörü olup aktivasyonuna *H. pylori* enfeksiyonunda cagA aracılık etmektedir. NF- κ B'nin aktivasyonu, proliferasyon, anjiyogenez, invazyon ve apoptozin bloke edilmesi de dahil olan birkaç proinflamatuvar sitokin ve kemokin salınımını indüklemektedir (Sokolova ve Naumann 2017).

Uygulanan kemoterapinin neden olduğu hücresel stresin bazı durumlarda mide kanseri hücre dizilerinde NF- κ B aktivasyonunu sebep olduğu bu durumun da ilaç direncine yol açabileceği de bildirilmiştir (Rohwer ve ark. 2010, Endo ve ark. 2014). Günümüzde, NF- κ B'nin gastrointestinal maligniteler de dahil olmak üzere inflamasyona bağlı kanserogenezde önemli tetikleyicilerden biri olduğu kabul edilmektedir (Gamhbir ve ark. 2015).

Dolayısıyla *H. pylori* enfeksiyonu sırasında bu gen transkripsiyonunun inhibisyonu kanser progresyonunun önüne geçilebilmesi bakımından büyük öneme sahiptir.

Çalışmamızda tüm tedavi gruplarında NF-κB upregülasyonunun inhibe edildiği tespit edilmiştir. (Şekil 4.17). Kombine tedavi gruplarında da tekli tedavi gruplarında olduğu gibi genin ekspresyonunun inhibe edildiği, *S. thermophilus* artı *L. casei* kombine tedavi grubunda ise bu inhibisyonun güçlü sinerjik etki olarak ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Hem ilaç direncinin önüne geçilmesi hem de kanser progresyonunun inhibe edilebilmesi için bu bileşiklerin ve kombinasyonların terapötik etkinliklerinin NF-κB gen ekspresyonunun inhibisyonu noktasında oldukça önemli olduğunu düşünmekteyiz (Şekil 4.18).

Deneylerde sıçanların dekapitasyonunu takiben anti-*H. pylori* eradikasyon oranları alınan mide doku örneklerinde kültür izolasyon yöntemiyle bakterinin izolasyonu ve dokuların histopatolojik incelemelerine dayanan yöntemlerle de değerlendirilmiştir. Çalışmada tekli tedavi gruplarında en etkili bileşiğin *S. thermophilus* biyoproteinleri ile elde edildiği tespit edilmiştir. Bu gruptaki hayvanların mide örneklerinde *H. pylori* eradikasyonunun tam olduğu, histopatolojik iyileşmenin de kültür sonuçlarını verifiye ettiği tespit edilmiştir. Bu tedavi grubunda tedavi edilen sıçanlarda mide dokularında mukozal ve submukozal bölgede lenfosit infiltrasyonuna rastlanmazken, çok düşük düzeyde lökosit infiltrasyonu ve dokulara hafif ödem varlığı tespit edilmiştir ki bu durum tam iyileşme olarak değerlendirilmelidir. *S. thermophilus* tedavi grubundaki mikrobiyolojik ve histolojik iyileşmenin *S. thermophilus* biyoproteinlerinin NF-κB, başta olmak üzere proinflamatuvar ve antiinflamatuvar gen ekspresyonları üzerindeki regülatör etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. *S. thermophilus* tedavi grubunda TNF-alfa, COX-2 ve IL-1 beta, IL-6, IL-33, FOXM1 ve IL-8 gen ekspresyonları anlamlı derecede azalırken, IL-10 ekspresyonunu ise anlamlı derecede artmıştır. Bu etkinin histopatolojik iyileşmede çok önemli olduğu, iyileşmenin bu ekspresyonlara ve inhibisyona bağlı olarak geliştiğini düşünmekteyiz. Tekli tedavi gruplarında bu etki ne *G. asit* ve *L. casei* tedavi grubunda ne de konvansiyonel antibiyotik tedavi grubunda elde edilmiştir.

S. thermophilus tedavi grubunda hayvanlarda *H. pylori* eradikasyonu tam olarak sağlanırken, *S. thermophilus* dışındaki tüm tekli tedavi gruplarında *H. pylori* eradikasyonu tam olarak yapılamamış, *G. asit*, *L. casei* ve antibiyotik tedavi gruplarında sırasıyla sıçanların %40, %40 ve %20'sinde *H. pylori* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bulguları histopatolojik bulgular da desteklemiştir. Sözgelimi *H. pylori* eradikasyonu tam olmayan antibiyotik tedavi grubunda mukozal ve submukozal alanda lenfoplazmositik infiltrasyon varlığı tespit edilirken, *Lactobacillus casei* tedavi grubunda lenfoplazmositik infiltrasyon ve

lökosit infiltrasyonu ve ödem varlığı, G. asit tedavi grubunda ise dokularda ödem varlığı mevcut değilken mukozal ve submukozal bölgede orta şiddette lenfoplazmositik infiltrasyon, hafif derecede lökosit infiltrasyonu tespit edilmiştir.

Kombine tedavi gruplarında ise *S. thermophilus*'un G. asit ve *L. casei* ile G. asitin antibiyotik ile kombine olarak uygulandığı tedavi gruplarında hayvanların mide dokularında %20 oranında *H. pylori* izolasyonu yapılmış olsa da yapılan histopatolojik değerlendirmelerde, histolojik iyileşmenin oldukça başarılı olduğu tespit edilmiştir. Özellikle *S. thermophilus* artı G. asit tedavi grubunda mukozal ve submukozal bölgede ödem, lökosit ve lenfosit infiltrasyonunun olmayışı önemli olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca mevcut antibiyotik tedavisinin başarısını artırmada G. asit kombinasyonunun ödem ve lökosit infiltrasyonu ortadan kaldırması tedavide başarısı olarak değerlendirilmelidir.

Çalışmada üçlü kombine tedavi gruplarında etkinliğin, ikili kombine tedavi gruplarında bakteri eradikasyonu noktasında daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. Üçlü kombine tedavi uygulanan iki grupta da (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik ve *S. thermophilus* artı G. asit artı antibiyotik tedavi grupları) hayvanların mide dokularında *H. pylori*'ye rastlanmazken, histolojik doku iyileşmesinin de her iki grupta oldukça başarılı olduğu saptanmıştır. Her iki grupta da orta düzeyde lenfosit infiltrasyonu ile hafif ödem ve düşük lökosit infiltrasyonu tespit edilmiştir.

S. thermophilus artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik kombinasyonundan oluşan dörtlü tedavi grubunda ise *H. pylori* eradikasyonunun tam olduğu, mide dokusunda lökosit infiltrasyonuna ve ödeme rastlanmadığı, sadece hafif lenfosit infiltrasyonun olduğu tespit edilmiştir. *S. thermophilus* tekli tedavi grubu ile bu dörtlü tedavi grubunda gerek *H. pylori* eradikasyonunun tam olması ve gerekse de histolojik açıdan doku iyileşmesinin tam olması sebebiyle hem yeni tedavi yaklaşımlarının oluşturulmasında hem de mevcut terapötik yöntemlerin iyileştirilmesi açısından oldukça önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

1. *S. thermophilus* biyokomponentleri COX-2 gen ekspresyonu seviyesini anlamlı derecede inhibe etmiştir. *L. casei* biyokomponentleri gen ekspresyonunda azalma meydana getirirken, G. asit tedavi grubunda anlamlı olmayan bir yükselme, antibiyotik tedavi grubunda ise anlamlı bir artış tespit edilmiştir.
2. Kombine tedavi gruplarında (*S. thermophilus* artı G. asit dışında) G.asit, *S. thermophilus*, *L. casei* biyoproteinleri güçlü sinerjistik etkiler oluşturarak COX-2 gen ekspresyonu üzerinden anlamlı azalmalar meydana getirmiştir.
3. *S. thermophilus*, *L. casei*, G. asit ve anbiyotik tedavi uygulamalarının tamamında NF-kB gen ekspresyonu seviyesinde anlamlı azalmaların olduğu tespit edilmiştir.
4. NF-kB ekspresyonu üzerinde kombine tedavi gruplarının tamamında benzer olarak azalma görülürken, *S. thermophilus* artı *L. casei* tedavi kombinasyonunda sinerjizm tespit edilmiştir. Diğer kombinasyonlarda ise NF-kB seviyesinde bileşiklerin kombinasyonlarının aditif etki oluşturduğu tespit edilmiştir.
5. *S. thermophilus* ve *L. casei* tedavi gruplarında TNF- α ekspresyon seviyesinde anlamlı azalmalar meydana gelirken, G. asit ve antibiyotik tedavi grubunda anlamlı azalma tespit edilmemiştir.
6. Kombinasyon tedavilerinde *S. thermophilus* artı *L. casei*, G. asit artı *L. casei*, *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik, *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik tedavi gruplarında TNF- α seviyelerinde anlamlı azalmalar meydana geldiği tespit edilirken bu kombinasyonlarda sinerjistik etkinlik tespit edilmemiştir. Diğer kombinasyonlarda ise TNF- α gen ekspresyon seviyelerinde anlamlı değişimler meydana gelmemiştir.
7. IL-1B gen ekspresyonu üzerinde tüm bileşikler kontrol grubuna anlamlı düzeyde inhibisyon oluşturmuştur. En güçlü inhibisyon *S. thermophilus* tedavi grubunda tespit edilmiştir.
8. Kombine tedavi gruplarında *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit tedavi grubunda IL-1B seviyesinde azalış anlamlı bulunmazken, diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. Fakat bileşiklerin kombinasyonlarının kullanımı sinerjistik etkinlik oluşturmazken sadece aditif aktivite tespit edilmiştir.

9. Tekli tedavi gruplarında tüm bileşiklerin (*S. thermophilus*, *L. casei* ve G. asit) IL-6 sentezini kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak inhibe ettiği tespit edilirken, antibiyotik tedavi grubunda anlamlı bir inhibisyon saptanmamıştır.
10. Kombine tedavi gruplarında IL-6 sentezi tüm gruplarda anlamlı derecede inhibe edilmiştir. Burada antibiyotik tedavi grubunda anlamlı azalma meydana gelmezken antibiyotikle kombine edilen tüm gruplarda IL-6 ekspresyonunun anlamlı azalmaya yol açması tedavi başarısını arttırması bakımından önemli olarak değerlendirilmiştir.
11. IL-8 sentezi üzerinde G. asit tedavi grubunda anlamlı değişiklik meydana gelmezken, antibiyotik tedavi grubunda IL-8 sentezi anlamlı derecede artmış, *L. casei* ve *S. thermophilus* tedavi gruplarında ise anlamlı olarak inhibe edilmiştir.
12. Kombine tedavi gruplarında *S. thermophilus* artı *L. casei* tedavi grubunda IL-8 sentezi anlamlı derecede azalırken, sadece dörtlü kombine tedavi grubunda (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik tedavi grubu) anlamlı değişimin olmadığı diğer tüm kombine tedavi gruplarında anlamlı derecede artışların olduğu tespit edilmiştir.
13. IL-10 seviyesinde *S. thermophilus* ve G. asit'in IL-10 sentezini anlamlı derecede arttırdığı tespit edilirken *L. casei* ve antibiyotik tedavi gruplarında IL-10 ekspresyonu seviyesinde anlamlı değişiklikler meydana gelmemiştir.
14. İkili, üçlü ve dörtlü tüm kombine tedavi gruplarında ise IL-10 sentezi anlamlı derece artmıştır. En güçlü artış dörtlü kombine tedavi grubunda (*S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik tedavi grubu) tespit edilmiştir.
15. IL-33 sentezi üzerinde *L. casei*, *S. thermophilus* ve G. asitin anlamlı düzeyde azalış meydana getirdiği, antibiyotik tedavi grubunda ise bu azalma anlamlı bulunmamıştır.
16. Kombine tedavi gruplarında IL-33 sentezi *S. thermophilus* artı *L. casei*, *S. thermophilus* artı G. asit ve *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit tedavi gruplarında anlamlı derecede azalırken, diğer tedavi gruplarında artış tespit edilmezken azalma oranlarının da anlamlı düzeyde olmadığı saptanmıştır.
17. *S. thermophilus* ve *L. casei* tedavi gruplarında FOX-M1 sentezi kontrol grubundan anlamlı derecede daha düşük bulunurken, G. asit tedavi grubunda anlamlı olmayan bir artış, antibiyotik tedavi grubunda ise oldukça yüksek anlamlılıkta bir artışın olduğu tespit edilmiştir.

18. Kombine tedavi gruplarında *S. thermophilus* artı G. asit tedavi grubu ile *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit kombine tedavi gruplarında anlamlı bir azalma ve güçlü bir sinerjistik etkiler tespit edilirken, diğer tüm gruplarda anlamlı derecede artışların olduğu saptanmıştır.
19. *In-vivo* deneylerde *S. thermophilus* tedavi grubunda sıçanlarda *H. pylori* eradikasyonu tam olarak sağlanırken, G. asit tedavi grubunda sıçanların %40'ında, antibiyotik ve *L. casei* tedavi gruplarının her birinde ise %20 oranında *H. pylori* izolasyonu yapılmıştır.
20. *S. thermophilus* artı *L. casei* artı antibiyotik, *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit ve *S. thermophilus* artı *L. casei* artı G. asit artı antibiyotik tedavi gruplarında sıçanların tümünde tam *H. pylori* eradikasyonu sağlanmıştır.
21. Eradikasyonun tam sağlandığı tedavi gruplarında histo-patolojik değerlendirmelerde dokularda lökosit ve lenfosit infiltrasyonları ile ödemim olmayışı veya hafif düzeyde olması histolojik iyileşme lehinde değerlendirilmiştir. *H. pylori* eradikasyonu sağlanan tüm tedavi gruplarında histolojik iyileşmenin de tam olması tedavi başarısı olarak nitelendirilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. **Abadi ATB.** Resistance to clarithromycin and gastroenterologist's persistence roles in nomination for *Helicobacter pylori* as high priority pathogen by World Health Organization. *World J Gastroenterol.* **2017**, Sep 21;23(35):6379-6384.
2. **Abbate A, Van Tassell BW, Wise CM, Dinarello, CA.** Interleukin-1 blockade in rheumatoid arthritis and heart failure: a missed opportunity?. *International Journal of Cardiology*, **2014**, 171(3), e125-e126.
3. **Achtman M, Azuma T, Berg DE, Ito Y, Morelli G ve ark.** Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Molecular microbiology*, **1999**, 32(3), 459-470.
4. **Açıkgül FC.** İnsan akciğer (a-549), meme (mcf-7) ve melanoma (a-2058) kanser hücrelerinde alfa-pinen, gama-terpinen ve p-cymen'nin apoptozis yoluyla in vitro ve in vivo antitümoral etkinliğinin araştırılması. Doktora tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, **2021**,s 34.
5. **Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH.** Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **2012**, 119(3), 651-665.
6. **Ahn SJ, Song YD, Mah SJ, Cho EJ, Kook JK.** Determination of optimal concentration of deglycyrrhized licorice root extract for preventing dental caries using a bacterial model system. *Journal of Dental Sciences*, **2014**, 9(3), 214-220.
7. **Ai C, Zhang J, Lian S, Ma J, Györfy B ve ark.** FOXM1 functions collaboratively with PLAU to promote gastric cancer progression. *Journal of Cancer*, **2020**, 11(4), 788.
8. **Alba C, Blanco A, Alarcón T.** Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Current opinion in infectious diseases*, **2017**, 30(5), 489-497.
9. **Albermann ME, Musshoff F, Hagemeyer L, Madea B.** Determination of glycyrrhetic acid after consumption of liquorice and application to a fatality. *Forensic Science International*, **2010**, 197(1), 35-39.
10. **Alley M. C, Scudiero D. A, Monks A, Hursey M. L, Czerwinski M. J, et al.** Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer research*, **1988**, 48(3), 589-601.
11. **Angol DC, Ocama P, Ayazika Kirabo T, Okeng A, Najjingo I ve ark.** *Helicobacter pylori* from peptic ulcer patients in Uganda is highly resistant to clarithromycin and fluoroquinolones: results of the GenoType HelicoDR test directly applied on stool. *BioMed research international*, **2017**.
12. **Armanini D, Fiore C, Mattarello MJ, Bielenberg J, Palermo M.** History of the endocrine effects of licorice. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, **2002**, 110(06), 257-261.
13. **Arslan N, Yılmaz Ö, Demiray-Gürbüz E.** Importance of antimicrobial susceptibility testing for the management of eradication in *Helicobacter pylori* infection. *World Journal of Gastroenterology*, **2017**, 23(16), 2854.
14. **Asfaha S, Dubeykovskiy AN, Tomita H, Yang X, Stokes S ve ark.** Mice that express human interleukin-8 have increased mobilization of immature myeloid cells, which exacerbates inflammation and accelerates colon carcinogenesis. *Gastroenterology*, **2013**, 144(1), 155-166.
15. **Asha MK, Debraj D, Edwin JR, Srikanth HS, Muruganantham N ve ark.** In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. *Journal of ethnopharmacology*, **2013**, 145(2), 581-586.
16. **Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Jeloudari M, Eftekhari Z, Delfan B ve ark.** A review of the health effects and uses of drugs of plant licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) in Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **2014**, 4(S2), S847-S849.
17. **Balzaretti S, Taverniti V, Guglielmetti S, Fiore W, Minuzzo M ve ark.** A novel rhamnose-rich hetero-exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus paracasei* DG activates THP-1 human monocytic cells. *Applied and environmental microbiology*, **2017**, 83(3), e02702-16.
18. **Bauerfeind P, Garner R, Dunn, BE, Mobley HL.** Synthesis and activity of *Helicobacter pylori* urease and catalase at low pH. *Gut*, **1997**, 40(1), 25-30.
19. **Beales IL, Calam J.** Stimulation of IL-8 production in human gastric epithelial cells by *Helicobacter pylori*, IL-1 β and TNF- α requires tyrosine kinase activity, but not protein kinase C. *Cytokine*, **1997**, 9(7), 514-520.
20. **Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A.** Probiotic

- mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **2012**, 61(2), 160-174.
21. **Berube BJ, Wardenburg JB.** Staphylococcus aureus α -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins*, **2013**, 5(6), 1140-1166.
 22. **Bjorkman DJ, Steenblik M.** Best Practice Recommendations for Diagnosis and Management of Helicobacter pylori—Synthesizing the Guidelines. *Current treatment options in gastroenterology*, **2017**, 15(4), 648-659.
 23. **Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM ve ark.** Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer research*, **1995**, 55(10), 2111-2115.
 24. **Brown LM.** Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiologic reviews*, **2000**, 22(2), 283-297.
 25. **Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pajdo R, Schuppan D ve ark.** Involvement of cyclooxygenase (COX)-2 products in acceleration of ulcer healing by gastrin and hepatocyte growth factor. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **2000**, 51(4), 1.
 26. **Bui D, Brown HE, Harris RB, Oren E.** Serologic evidence for fecal–oral transmission of Helicobacter pylori. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **2016**, 94(1), 82.
 27. **Buzzelli JN, Chalinor HV, Pavlic DI, Sutton P, Menheniott TR ve ark.** IL33 is a stomach alarmin that initiates a skewed Th2 response to injury and infection. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, **2015**, 1(2), 203-221.
 28. **Caggianiello G, Kleerebezem M, Spano G. ()**. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied microbiology and biotechnology*, **2016**, 100(9), 3877-3886.
 29. **Cao D, Jiang J, You L, Jia Z, Tsukamoto T ve ark.** The protective effects of 18 β -glycyrrhetinic acid on Helicobacter pylori-infected gastric mucosa in Mongolian Gerbils. *BioMed Research International*, **2016**.
 30. **Cecilia G, Dinarello CA, Mantovani A.** The interleukin-1 family: Back to the future. *Immunity*, **2013**, 39(6), 1003-18.
 31. **Celik MM, Duran N.** An experimental study to evaluate the anti-helicobacter activity of Glycyrrhetinic acid. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, **2019**, 27(1), 63-71.
 32. **Cerami A.** The value of failure: the discovery of TNF and its natural inhibitor erythropoietin. *Journal of internal medicine*, **2011**, 269(1), 8-15.
 33. **Chalaris A, Garbers C, Rabe B, Rose-John S, Scheller J.** The soluble Interleukin 6 receptor: generation and role in inflammation and cancer. *European journal of cell biology*, **2011**, 90(6-7), 484-494.
 34. **Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S ve ark, Rock KL.** Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nature medicine*, **2007**, 13(7), 851-856.
 35. **Chey WD, Leontiadis GI, Howden CW, Moss SF.** ACG clinical guideline: treatment of Helicobacter pylori infection. *Official journal of the American College of Gastroenterology ACG*, **2017**, 112(2), 212-239.
 36. **Chmiela M, Gonciarz W, Krupa A.** Proregenerative Activity of IL-33 in Gastric Tissue Cells Undergoing Helicobacter Pylori-Induced Apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, **2020**, 21(5), 1801.
 37. **Chong DQ, Shan JL, Yang CS, Wang R, Du ZM.** Clinical prognostic value of A FOXM1 related long non-coding RNA expression in gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **2018**, 22(2), 417-421.
 38. **Cover TL.** Perspectives on methodology for in vitro culture of Helicobacter pylori. *Helicobacter Species*, **2012**, 11-15.
 39. **Dang BN, Graham DY.** Helicobacter pylori infection and antibiotic resistance: a WHO high priority?. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **2017**, 14(7), 383-384.
 40. **Dargiene G, Kupcinskas J, Jonaitis L, Vezbavicius M, Kadusevicius E ve ark.** Primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori strains among adults and children in a tertiary referral centre in Lithuania. *Apmis*, **2018**, 126(1), 21-28.
 41. **de Zoete MR, Palm NW, Zhu S, Flavell RA.** Inflammasomes. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2014**, 6, a016287.
 42. **Dinarello CA, van der Meer JW.** Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. In *Seminars in immunology*, **2013**, (Vol. 25, No. 6, pp. 469-484). Academic Press.
 43. **Dinarello CA.** An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. *Molecular*

- medicine, 20(1), 2014, S43-S58.
44. **Dinarello CA.** Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. **1996**, Mar 15;87(6):2095-147. PMID: 8630372.
 45. **Dinarello CA.** Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual review of immunology*, **2009**, 27, 519-550.
 46. **Dörner T, Kay J.** Biosimilars in rheumatology: current perspectives and lessons learnt. *Nature Reviews Rheumatology*, **2015**, 11(12), 713-724.
 47. **Eckmann L, Stenson WF, Savidge TC, Lowe DC, Barrett KE ve ark.** Role of intestinal epithelial cells in the host secretory response to infection by invasive bacteria. Bacterial entry induces epithelial prostaglandin h synthase-2 expression and prostaglandin E2 and F2alpha production. *The Journal of clinical investigation*, **1997**, 100(2), 296-309.
 48. **El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA ve ark.** Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, **2003**, 124(5), 1193-1201.
 49. **Endo F, Nishizuka SS, Kume K, Ishida K, Katagiri H ve ark.** A Compensatory role of NF- κ B to p53 in response to 5-FU-based chemotherapy for gastric cancer cell lines. *PloS one*, **2014**, 9(2), e90155.
 50. **Escamilla J, Lane MA, Maitin V.** Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutrition and cancer*, **2012**, 64(6), 871-878.
 51. **Facklam R.** What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical microbiology reviews*, **2002**, 15(4), 613-630.
 52. **Fallone CA, Chiba N, van Zanten SV, Fischbach L, Gisbert JP ve ark.** The Toronto consensus for the treatment of *Helicobacter pylori* infection in adults. *Gastroenterology*, **2016**, 151(1), 51-69.
 53. **Fallone CA, Moss SF, Malfertheiner P.** Reconciliation of recent *Helicobacter pylori* treatment guidelines in a time of increasing resistance to antibiotics. *Gastroenterology*, **2019**, 157(1), 44-53.
 54. **Fang W, Qian J, Wu Q, Chen Y, Yu G.** ADAM-17 expression is enhanced by FoxM1 and is a poor prognostic sign in gastric carcinoma. *Journal of Surgical Research*, **2017**, 220, 223-233.
 55. **FAO/WHO.** *Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria – Joint FAO/WHO Expert Consultation.* **2001**, Córdoba: American Córdoba Park Hotel.
 56. **Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG.** Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods*, **2009**, 41, 1149-1160.
 57. **Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner AG.** Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, **2007**, 39, 175-191.
 58. **Feldmann M.** Translating molecular insights in autoimmunity into effective therapy. *Annual review of immunology*, **2009**, 27, 1-27.
 59. **Feldmeyer L, Keller M, Niklaus G, Hohl D, Werner S ve ark.** The inflammasome mediates UVB-induced activation and secretion of interleukin-1 β by keratinocytes. *Current Biology*, **2007**, 17(13), 1140-1145.
 60. **Feldmeyer L, Werner S, French LE, Beer HD.** Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *European journal of cell biology*, **2010**, 89(9), 638-644.
 61. **Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C ve ark.** Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, **2015**, 136(5), E359-E386.
 62. **Fernandez MA, Picard-Deland É, Le Barz M, Daniel N ve ark.** Yogurt and health. **2017**, In *Fermented foods in health and disease prevention* (pp. 305-338). Academic Press
 63. **Fischbach LA, Goodman KJ, Feldman M, Aragaki C.** Sources of variation of *Helicobacter pylori* treatment success in adults worldwide: a meta-analysis. *International journal of epidemiology*, **2002**, 31(1), 128-139.
 64. **Fischbach LA, Van Zanten SV, Dickason J.** Meta-analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to first-line anti-*Helicobacter pylori* quadruple therapies. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, **2004**, 20(10), 1071-1082.
 65. **Fischbach W, Malfertheiner P.** *Helicobacter Pylori* infection: when to eradicate, how to diagnose and treat. *Deutsches Ärzteblatt International*, **2018**, 115(25), 429.
 66. **Flores-Treviño S, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarias P, Maldonado-Garza HJ, Garza-González E.** *Helicobacter pylori* drug resistance: therapy changes and challenges. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, **2018**, 12(8), 819-827.

67. Freitas F, Alves VD, Reis MA. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. *Trends in biotechnology*, **2011**, 29(8), 388-398.
68. Freitas M. The benefits of yogurt, cultures, and fermentation. In *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology* (pp. 209-223). Academic Press, **2017**.
69. Fujimoto M, Serada S, Mihara M, Uchiyama Y, Yoshida H ve ark. Interleukin-6 blockade suppresses autoimmune arthritis in mice by the inhibition of inflammatory Th17 responses. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, **2008**, 58(12), 3710-3719.
70. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S ve ark. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. *Life sciences*, **2002**, 71(12), 1449-1463.
71. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S ve ark. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Fitoterapia*, **2002**, 73(6), 536-539.
72. Fukui H, Goto K, Tabata M. Two antimicrobial flavanones from the leaves of Glycyrrhiza glabra. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, **1988**, 36(10), 4174-4176.
73. Gambhir S, Vyas D, Hollis M, Aekka A, Vyas A. Nuclear factor kappa B role in inflammation associated gastrointestinal malignancies. *World journal of gastroenterology: WJG*, **2015**, 21(11), 3174.
74. Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, Pirozzi G, Stahl N ve ark. Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease. *Nature reviews Drug discovery*, **2016**, 15(1), 35-50.
75. Gawron AJ, Shah SC, Altayar O, Davitkov P, Morgan D ve ark. AGA technical review on gastric intestinal metaplasia—natural history and clinical outcomes. *Gastroenterology*, **2020**, 158(3), 705-731.
76. Gerrits MM, van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG. Helicobacter pylori and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *The Lancet infectious diseases*, **2006**, 6(11), 699-709.
77. Giannakis M, Chen SL, Karam SM, Engstrand L, Gordon JI. Helicobacter pylori evolution during progression from chronic atrophic gastritis to gastric cancer and its impact on gastric stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2008**, 105(11), 4358-4363.
78. Giraffa G, Chanishvili N, Widyastuti Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Res Microbiol*. **2010**, Jul-Aug;161(6):480-7.
79. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, PETERS M, COLLINS MD ve ark. Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **1989**, 39(4), 397-405.
80. Groux H, Bigler M, De Vries JE, Roncarolo MG. Inhibitory and stimulatory effects of IL-10 on human CD8+ T cells. *The Journal of Immunology*, **1998**, 160(7), 3188-3193.
81. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine*, **2015**, 21(7), 677-687.
82. Gupta N, Maurya S, Verma H, Verma VK. Unraveling the factors and mechanism involved in persistence: Host-pathogen interactions in Helicobacter pylori. *Journal of Cellular Biochemistry*, **2019**, 120(11), 18572-18587.
83. Gupta VK, Fatima A, Faridi U, Negi AS, Shanker K ve ark. Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra roots. *Journal of ethnopharmacology*, **2008**, 116(2), 377-380.
84. Halasi M, Gartel AL. Targeting FOXM1 in cancer. *Biochemical pharmacology*, **2013**, 85(5), 644-652.
85. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, **2011**, 144(5), 646-674.
86. Haruta H, Ohguro N, Fujimoto M, Hohki S, Terabe F ve ark. Blockade of interleukin-6 signaling suppresses not only Th17 but also interphotoreceptor retinoid binding protein-specific Th1 by promoting regulatory T cells in experimental autoimmune uveoretinitis. *Investigative ophthalmology & visual science*, **2011**, 52(6), 3264-3271.
87. Hayashi H, Tamura S, Chiba R, Fujii I, Yoshikawa N ve ark. Field survey of Glycyrrhiza plants in Central Asia (4). Characterization of G. glabra and G. bucharica collected in Tajikistan. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2016**, 39(11), 1781-1786.
88. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ ve ark. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, **2014**.
89. Hirano T, Taga T, Yasukawa K, Nakajima K, Nakano N ve ark. Human B-cell differentiation factor defined by an anti-peptide antibody and its possible role in autoantibody production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1987**, 84(1), 228-231.

90. Hruz T, Wyss M, Docquier M, Pfaffl M.W, Masanetz S ve ark. RefGenes: identification of reliable and condition specific reference genes for RT-qPCR data normalization. *BMC genomics*, **2011**, 12(1): 156.
91. Hu Y, Zhang M, Lu B, Dai J. Helicobacter pylori and antibiotic resistance, a continuing and intractable problem. *Helicobacter*, **2016**, 21(5), 349-363.
92. Hu Y, Zhu Y, Lu NH. Novel and effective therapeutic regimens for Helicobacter pylori in an era of increasing antibiotic resistance. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, **2017**, 7, 168.
93. Huang EH, Park JC, Appelman H, Weinberg AD, Banerjee M ve ark. Induction of inflammatory bowel disease accelerates adenoma formation in Min+/- mice. *Surgery*, **2006**, 139(6), 782-788.
94. Huang L, Shan YJ, He CX, Ren MH, Tian PJ ve ark. Effects of L. paracasei subp. paracasei X12 on cell cycle of colon cancer HT-29 cells and regulation of mTOR signalling pathway. *Journal of functional foods*, **2016**, 21, 431-439.
95. International Agency for Research on Cancer (IARC). Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, & World Health Organization. *Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori* (Vol. 61). **1994**, International Agency for Research on Cancer.
96. Israël A. The IKK complex, a central regulator of NF- κ B activation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **2010**, 2(3), a000158.
97. Jang S, Kim J, Cha JH. Cot kinase plays a critical role in Helicobacter pylori-induced IL-8 expression. *Journal of Microbiology*, **2017**, 55(4), 311-317.
98. Jayaraman P, Sada-Ovalle I, Nishimura T, Anderson AC, Kuchroo VK ve ark. IL-1 β promotes antimicrobial immunity in macrophages by regulating TNFR signaling and caspase-3 activation. *The Journal of immunology*, **2013**, 190(8), 4196-4204.
99. Kamimura D, Ishihara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, **2003**, 1-38.
100. Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, **2011**, 7(1), 33-42.
101. Karin M, & Delhase, M. The I κ B kinase (IKK) and NF- κ B: key elements of proinflammatory signalling. In *Seminars in immunology*, **2000**, Vol. 12, No. 1, pp. 85-98.
102. Katsume A, Saito H, Yamada Y, Yorozu K, Ueda O ve ark. Anti-interleukin 6 (IL-6) receptor antibody suppresses Castleman's disease like symptoms emerged in IL-6 transgenic mice. *Cytokine*, **2002**, 20(6), 304-311.
103. Keren I, Kaldalu N, Spoering A, Wang Y, Lewis K. Persister cells and tolerance to antimicrobials. *FEMS microbiology letters*, **2004**, 230(1), 13-18.
104. Khoury J, Geffen Y, Shaul R, Sholy H, Chowder Y ve ark. Secondary antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates in Israeli children and adults. *Journal of global antimicrobial resistance*, **2017**, 10, 182-185.
105. Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F ve ark. Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. *The American journal of pathology*, **2012**, 180(1), 165-176.
106. Kitadai Y, Haruma K, Sumii K, Yamamoto S, Ue T ve ark. Expression of interleukin-8 correlates with vascularity in human gastric carcinomas. *The American journal of pathology*, **1998**, 152(1), 93.
107. Kobayashi Y, Yamamoto K, Saido T, Kawasaki H, Oppenheim JJ ve ark. Identification of calcium-activated neutral protease as a processing enzyme of human interleukin 1 alpha. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1990**, 87(14), 5548-5552.
108. Kori M., Yahav J, Berdinstein R, Shmueli H. Primary and Secondary Antibiotic Resistance of Helicobacter pylori in Israeli Children and Adolescents. *The Israel Medical Association Journal: IMAJ*, **2017**, 19(12), 747-750.
109. Krause R, Bielenberg J, Blaschek W, Ullmann U. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of Extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2004**, 54(1), 243-246.
110. Kuldo JM, Ogawara KI, Werner N, Ásgeirsdóttir SA, Kamps JA ve ark. Molecular pathways of endothelial cell activation for (targeted) pharmacological intervention of chronic inflammatory diseases. *Current vascular pharmacology*, **2005**, 3(1), 11-39.
111. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *International reviews of immunology*, **2011**, 30(1), 16-34.
112. Kuo YT, Liou JM, El-Omar EM, Wu JY, Leow AHR ve ark. Asian Pacific Alliance on Helicobacter and Microbiota. Primary antibiotic resistance in Helicobacter pylori in the Asia-Pacific

- region: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, **2017**, 2(10), 707-15.
113. **Kusters J, van Vliet A, Kuipers E.** Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clin Microbiol Rev*, **2006**, 19: 449-490.
 114. **Lanas A, Chan FKL.** Peptic ulcer disease. *Lancet*. **2017** Aug 5;390(10094):613-624.
 115. **Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA ve ark.** Interleukin-1–receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, **2007**, 356(15), 1517-1526.
 116. **Lawrence T.** Cold Spring Harb. *Perspect. Biol*, **2009**, 1(1).
 117. **Laws A, Gu Y, Marshall V.** Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, **2001**, 19(8), 597-625.
 118. **Lee AY, Kao CY, Wang YK, Lin SY, Lai TY ve ark.** Inactivation of ferric uptake regulator (Fur) attenuates *Helicobacter pylori* J99 motility by disturbing the flagellar motor switch and autoinducer-2 production. *Helicobacter*, **2017**, 22(4), e12388.
 119. **Lee KE, Khoi PN, Xia Y, Park JS, Joo YE ve ark.** *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **2013**, 19(45), 8192.
 120. **Lee KH, Bae SH, Lee JL, Hyun MS, Kim SH ve ark.** Relationship between urokinase-type plasminogen receptor, interleukin-8 gene expression and clinicopathological features in gastric cancer. *Oncology*, **2004**, 66(3), 210-217.
 121. **Lee RA, Eisen DB.** Treatment of hidradenitis suppurativa with biologic medications. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **2015**, 73(5), S82-S88.
 122. **Lee YC, Chiang TH, Chou CK, Tu YK, Liao WC ve ark.** Association between *Helicobacter pylori* eradication and gastric cancer incidence: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*, **2016**, 150(5), 1113-1124.
 123. **Levescot A, Flamant S, Basbous S, Jacomet F, Féraud O ve ark.** BCR-ABL–induced deregulation of the IL-33/ST2 pathway in CD34 (+) progenitors from chronic myeloid leukemia patients. *Cancer research*, **2014**, 74(10), 2669-2676.
 124. **Li K, Ji S, Song W, Kuang Y, Lin Y ve ark.** Glycybridins A–K, bioactive phenolic compounds from *Glycyrrhiza glabra*. *Journal of Natural Products*, **2017**, 80(2), 334-346.
 125. **Lim SG, Park RW, Shin SJ, Yoon D, Kang JK ve ark.** The relationship between the failure to eradicate *Helicobacter pylori* and previous antibiotics use. *Digestive and Liver Disease*, **2016**, 48(4), 385-390.
 126. **Macías-García F, Llovo-Taboada J, Díaz-López M, Bastón-Rey I, Domínguez-Muñoz JE.** High primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from dyspeptic patients: a prevalence cross-sectional study in Spain. *Helicobacter*, **2017**, 22(6), e12440.
 127. **Macri A, Versaci A, Loddo S, Scuderi G, Travagliante M ve ark.** Serum levels of interleukin 1 β , interleukin 8 and tumour necrosis factor α as markers of gastric cancer. *Biomarkers*, **2006**, 11(2), 184-193.
 128. **Mager LF, Riether C, Schürch CM, Banz Y, Wasmer MH ve ark.** IL-33 signaling contributes to the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *The Journal of clinical investigation*, **2015**, 125(7), 2579-2591.
 129. **Mahmoudi S, Mamishi S, Banar M, Valian SK, Bahador A ve ark.** Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* strains isolated from Iranian children: high frequency of A2143G point mutation associated with clarithromycin resistance. *Journal of global antimicrobial resistance*, **2017**, 10, 131-135.
 130. **Maixner F, Krause-Kyora B, Turaev D, Herbig A, Hoopmann MR ve ark.** The 5300-year-old *Helicobacter pylori* genome of the Iceman. *Science*, **2016**, 351(6269), 162-165.
 131. **Malfertheiner P, Megraud F, O'morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ ve ark.** Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut*, **2017**, 66(1), 6-30.
 132. **Mannino MH, Zhu Z, Xiao H, Bai Q, Wakefield MR ve ark.** The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer letters*, **2015**, 367(2), 103-107.
 133. **Mantovani A, Barajon I, Garlanda C.** (2018). IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. *Immunological reviews*, **2018**, 281(1), 57-61
 134. **Marette A, Picard-Deland E.** Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *The American journal of clinical nutrition*, **2014**, 99(5), 1243S-1247S.
 135. **Martinon F, Burns K, Tschopp J.** The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Molecular cell*, **2002**, 10(2), 417-426.
 136. **Mascellino MT, Porowska B, De Angelis M, Oliva A.** Antibiotic susceptibility, heteroresistance, and updated treatment strategies in *Helicobacter pylori* infection. *Drug design, development and therapy*, **2017**, 11, 2209.

137. Maywald RL, Doerner SK, Pastorelli L, De Salvo C, Benton SM ve ark. IL-33 activates tumor stroma to promote intestinal polyposis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(19), E2487-E2496.
138. McGahon AJ, Martin SJ, Bissonnette RP, Mahboubi A, Shi Y ve ark. The end of the (cell) line: methods for the study of apoptosis in vitro. *Methods Cell Biol.* 1995;46:153-85.
139. Mihara M, Takagi N, Takeda Y, Ohsugi Y. IL-6 receptor blockage inhibits the onset of autoimmune kidney disease in NZB/W F1 mice. *Clinical & Experimental Immunology*, 1998, 112(3), 397-402.
140. Miller LS, O'Connell RM, Gutierrez MA, Pietras EM., Shahangian A ve ark. MyD88 mediates neutrophil recruitment initiated by IL-1R but not TLR2 activation in immunity against *Staphylococcus aureus*. *Immunity*, 2006, 24(1), 79-91.
141. Miranda-Filho A, Bray F, Charvat H, Rajaraman S, Soerjomataram I. The world cancer patient population (WCPP): an updated standard for international comparisons of population-based survival. *Cancer epidemiology*, 2020, 69, 101802.
142. Mitchell HM. The epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastrointestinal Disease and Helicobacter pylori*, 1999, 11-30.
143. Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Delaney B, Harris A ve ark. Eradication of *Helicobacter pylori* for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2005, (2).
144. Monaco C, Nanchahal J, Taylor P, Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *International immunology*, 2015, 27(1), 55-62.
145. Morris MC, Gilliam, EA, Button, J, Li, L. Dynamic modulation of innate immune response by varying dosages of lipopolysaccharide (LPS) in human monocytic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(31), 21584-21590.
146. Mosmann T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays", *J. Immunol. Methods*, 1983, 65: 55-63.
147. Mukhopadhyay M, Panja P. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots. *Separation and Purification Technology*, 2008, 63(3), 539-545.
148. Mumm JB, Emmerich J, Zhang X, Chan I, Wu L ve ark. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. *Cancer cell*, 2011, 20(6), 781-796.
149. Muñoz-Gómez P, Jordán-Castro JA, Abanades-Tercero M, Blanco-González JJ, Andres Esteban EM ve ark. Macrolide use in the previous years is associated with failure to eradicate *Helicobacter pylori* with clarithromycin-containing regimens. *Helicobacter*, 2018, 23(1), e12452.
150. Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S ve ark (). Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature*, 1997, 387(6636), 924-929.
151. Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M ve ark. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *Blood*, 2005, 106(8), 2627-2632.
152. Nomura AM, Pérez-Pérez GI, Lee J, Stemmermann G, Blaser MJ. Relation between *Helicobacter pylori* cagA status and risk of peptic ulcer disease. *American journal of epidemiology*, 2002, 155(11), 1054-1059.
153. Noone AM, Howlader N, Krapcho MA, Miller D, Brest A ve ark. SEER cancer statistics review, 1975–2015. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2018, 4.
154. O'Connor A, Lamarque D, Gisbert JP, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori* infection, *Helicobacter*, 2017, 22, e12410.
155. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF- κ B family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2009, 1(4), a000034.
156. Okada K, Fujiwara Y, Takahashi T, Nakamura Y, Takiguchi S ve ark. Overexpression of forkhead box M1 transcription factor (FOXM1) is a potential prognostic marker and enhances chemoresistance for docetaxel in gastric cancer. *Annals of surgical oncology*, 2013, 20(3), 1035-1043.
157. Okiyama N, Sugihara T, Iwakura Y, Yokozeki H, Miyasaka N ve ark. Therapeutic effects of interleukin-6 blockade in a murine model of polymyositis that does not require interleukin-17A. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 2009, 60(8), 2505-2512.
158. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 2011, 29, 71-109.
159. Ozen M, Dinleyici EC. The history of probiotics: the untold story. *Beneficial microbes*, 2015, 6(2), 159-165.
160. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA ve ark. *Helicobacter pylori* infection

- and gastric lymphoma. *New England Journal of Medicine*, **1994**, 330(18), 1267-1271.
161. **Pastukh N, Peretz A, Brodsky D, Isakovitch N, Azrad M ve ark.** Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains isolated from children in Israel. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, **2018**, 12, 175-178.
 162. **Payão SLM, Rasmussen LT.** *Helicobacter pylori* and its reservoirs: A correlation with the gastric infection. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics*, **2016**, 7(1), 126.
 163. **Peng C, Ouyang Y, Lu N, Li N.** The NF- κ B signaling pathway, the microbiota, and gastrointestinal tumorigenesis: Recent advances. *Frontiers in Immunology*, **2020**, 11, 1387.
 164. **Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A ve ark.** Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel Il-33–LacZ gene trap reporter strain. *The Journal of Immunology*, **2012**, 188(7), 3488-3495.
 165. **Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C.** Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *International journal of cancer*, **2015**, 136(2), 487-490.
 166. **Posselt G, Backert S, Wessler S.** The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Communication and Signaling*, **2013**, 11(1), 1-14.
 167. **Pot B, Felis GE, Bruyne KD, Tsakalidou E, Papadimitriou K ve ark.** “The genus *Lactobacillus*,” in *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*, eds W. H. Holzapfel and B. J. B. Wood (West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd), **2014**, 249–353.
 168. **Purwandari U, Shah NP, Vasiljevic T.** Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(11), **2007**, 1344-1352.
 169. **Raaf N, Amhis W, Saoula H, Abid A, Nakmouche M ve ark.** Prevalence, antibiotic resistance, and MLST typing of *Helicobacter pylori* in Algiers, Algeria. *Helicobacter*, **2017**, 22(6), e12446.
 170. **Račková L, Jančinová V, Petříková M, Drábíková K, Nosál R, Štefek M.** Mechanism of anti-inflammatory action of liquorice extract and glycyrrhizin. *Natural product research*, **2007**, 21(14), 1234-1241.
 171. **Ramarao N, Gray-Owen SD, Backert S, Meyer TF.** *Helicobacter pylori* inhibits phagocytosis by professional phagocytes involving type IV secretion components. *Molecular microbiology*, **2000**, 37(6), 1389-1404.
 172. **Ren HY, Wen LS, Geng YH, Huang JB, Liu JF ve ark.** Association between IL-1B gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, **2019**, 137, 103769.
 173. **Ren W, Xia Y, Wang G, Zhang H, Zhu S ve ark.** Bioactive exopolysaccharides from a *S. thermophilus* strain: Screening, purification and characterization. *International journal of biological macromolecules*, **2016**, 86, 402-407.
 174. **Rizzato G, Scalabrin E, Radaelli M, Capodaglio G, Piccolo O.** A new exploration of licorice metabolome. *Food Chemistry*, **2017**, 221, 959-968.
 175. **Rizzuti D, Ang M, Sokollik C, Wu T, Abdullah M ve ark.** *Helicobacter pylori* inhibits dendritic cell maturation via interleukin-10-mediated activation of the signal transducer and activator of transcription 3 pathway. *Journal of innate immunity*, **2015**, 7(2), 199-211.
 176. **Rodríguez C, Medici M, Mozzi F, de Valdez GF.** Therapeutic effect of *Streptococcus thermophilus* CRL 1190-fermented milk on chronic gastritis. *World journal of gastroenterology: WJG*, **2010**, 16(13), 1622.
 177. **Rohwer N, Dame C, Haugstetter A, Wiedenmann B, Detjen K ve ark.** Hypoxia-inducible factor 1 α determines gastric cancer chemosensitivity via modulation of p53 and NF- κ B. *PloS one*, **2010**, 5(8), e12038.
 178. **Rose-John S.** Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **2018**, 10(2), a028415.
 179. **Ruan T, Liu W, Tao K, Wu C.** A review of research progress in multidrug-resistance mechanisms in gastric cancer. *OncoTargets and therapy*, **2020**, 13, 1797.
 180. **Rubin J, Lai A, Dulai P, Gupta S, Crowe SE.** Su1210-Low rates of *H. pylori* eradication testing and cure rates in usual care. *Gastroenterology*, **2018**, 154(6), S-503.
 181. **Ruiter R, Wunderink HF, Veenendaal RA, Visser LG, De Boer MGJ.** *Helicobacter pylori* resistance in the Netherlands: a growing problem?. *Netherlands Journal of Medicine*, **2017**, 75(9), 394-398.
 182. **Saeed HK, Chiggiato L, Webb DL, Rehnberg AS, Rubio CA ve ark.** Elevated gaseous luminal

- nitric oxide and circulating IL-8 as features of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *Upsala journal of medical sciences*, **2021**,126.
- 183.Sachs G, Weeks DL, Wen Y, Marcus EA, Scott DR ve ark. Acid acclimation by *Helicobacter pylori*. *Physiology*, **2005**.
 - 184.Salaün L, Linz B, Suerbaum S, Saunders NJ. The diversity within an expanded and redefined repertoire of phase-variable genes in *Helicobacter pylori*. *Microbiology*, **2004**, 150(4), 817-830.
 - 185.Salveti E, Torriani S, Felis GE. The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, **2012**, 4(4), 217-226.
 - 186.Sanders ME, Shane AL, Merenstein DJ. Advancing probiotic research in humans in the United States: Challenges and strategies. *Gut Microbes*, **2016**, 7(2), 97-100.
 - 187.Sapan HB, Paturusi I, Islam AA, Yusuf I, Patellongi I ve ark. Interleukin-6 and interleukin-10 plasma levels and mRNA expression in polytrauma patients. *Chinese journal of traumatology*, **2017**, 20(06), 318-322.
 - 188.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(5), 1372-1382.
 - 189.Serada S, Fujimoto M, Mihara M, Koike N, Ohsugi Y ve ark. IL-6 blockade inhibits the induction of myelin antigen-specific Th17 cells and Th1 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2008**, 105(26), 9041-9046.
 - 190.Shalaby MA, Ibrahim HS, Mahmoud EM, Mahmoud AF. Some effects of *Glycyrrhiza glabra* (liquorice) roots extract on male rats. *Egyptian Journal of Natural Toxins*, **2004**, 1, 83-94.
 - 191.Simanski M, Erkens AS, Rademacher F, Harder J. Staphylococcus epidermidis-induced Interleukin-1 Beta and Human Beta-defensin-2 Expression in Human Keratinocytes is Regulated by the Host Molecule A20 (TNFAIP3). *Acta Derm Venereol*. **2019** Feb 1;99(2):181-187.
 - 192.Simmler C, Pauli GF, Chen SN. Phytochemistry and biological properties of glabridin. *Fitoterapia*, **2013**, 90, 160-184.
 - 193.Singh V, Pal A, Darokar MP. A polyphenolic flavonoid glabridin: Oxidative stress response in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Free Radical Biology and Medicine*, **2015**, 87, 48-57.
 - 194.Siracusa L, Saija A, Cristani M, Cimino F, D'Arrigo M ve ark. Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves—Chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia*, **2011**, 82(4), 546-556.
 - 195.Smith SM, O'Morain C, McNamara D. Antimicrobial susceptibility testing for *Helicobacter pylori* in times of increasing antibiotic resistance. *World journal of gastroenterology: WJG*, **2014**, 20(29), 9912.
 - 196.So SS, Wan ML, El-Nezami H. Probiotics-mediated suppression of cancer. *Current opinion in oncology*, **2017**, 29(1), 62-72.
 - 197.Sokolova O, Naumann M. NF- κ B signaling in gastric cancer. *Toxins*, **2017**, 9(4), 119.
 - 198.Spiegel BMR, Farid M, Van Oijen MGH, Laine L, Howden CW ve ark. Adherence to best practice guidelines in dyspepsia: a survey comparing dyspepsia experts, community gastroenterologists and primary-care providers. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, **2009**, 29(8), 871-881.
 - 199.Standiford TJ, Kunkel SL, Basha MA, Chensue SW, Lynch J ve ark. Interleukin-8 gene expression by a pulmonary epithelial cell line. A model for cytokine networks in the lung. *The Journal of clinical investigation*, **1990**, 86(6), 1945-1953.
 - 200.Stanghellini V, Chan FK, Hasler WL, Malagelada JR, Suzuki H ve ark. Gastroduodenal disorders. *Gastroenterology*, **2016**, 150(6), 1380-1392.
 - 201.Stefanović, OD. Synergistic activity of antibiotics and bioactive plant extracts: a study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Bacterial Pathogenesis and Antibacterial Control*, **2018**, 23, 23-48.
 - 202.Suganuma M, Watanabe T, Sueoka E, Lim IK, Fujiki H. Role of TNF- α -inducing protein secreted by *Helicobacter pylori* as a tumor promoter in gastric cancer and emerging preventive strategies. *Toxins*, **2021**, 13(3), 181
 - 203.Sun SC, Chang JH, Jin J. Regulation of nuclear factor- κ B in autoimmunity. *Trends in immunology*, **2013**, 34(6), 282-289.
 - 204.Sun SC, Ley SC. New insights into NF- κ B regulation and function. *Trends in immunology*, **2008**, 29(10), 469-478.
 - 205.Sun SC. Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell research*, **2011**, 21(1), 71-85.
 - 206.Sundnes O, Pietka W, Loos T, Sponheim J, Rankin AL ve ark. Epidermal Expression and

- Regulation of Interleukin-33 during Homeostasis and Inflammation: Strong Species Differences. *J Invest Dermatol*. **2015**, Jul;135(7):1771-1780.
207. **Suzana MK, Skender T, Emine DS, Halil A, Vjollca SM ve ark.** Helicobacter pylori gastritis updated Sydney classification applied in our material. *Sec Biol Med Sci*, **2009**, 30(1), 45-60
 208. **Tamang JP, Watanabe K, Holzapfel WH.** Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*, **2016**, 7, 377.
 209. **Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T.** IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **2014**, 6(10), a016295.
 210. **Thakur BK, Saha P, Banik G, Saha DR, Grover S ve ark.** Live and heat-killed probiotic Lactobacillus casei Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. *International Immunopharmacology*, **2016**, 36, 39-50.
 211. **Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD ve ark.** A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 β processing in monocytes. *Nature*, **1992**, 356(6372), 768-774.
 212. **Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, Gupta S, Park JY ve ark.** The global emergence of Helicobacter pylori antibiotic resistance. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, **2016**, 43(4), 514-533.
 213. **Tiptiri-Kourpeti A, Spyridopoulou K, Santarmaki V, Aindelis G, Tompoulidou E ve ark.** Lactobacillus casei exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. *PloS one*, **2016**, 11(2), e0147960.
 214. **Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Mégraud F.** Epidemiology and Diagnosis of Helicobacter pylori Infection. *Helicobacter*, **2012**, 17, 1-8.
 215. **Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A.** Global cancer incidence and mortality rates and trends—an update. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, **2016**, 25(1), 16-27.
 216. **Vallabhapurapu S, Karin M.** Regulation and function of NF- κ B transcription factors in the immune system. *Annual review of immunology*, **2009**, 27, 693-733.
 217. **Vane JR.** Inhibition of prostaglandin biosynthesis as the mechanism of action of aspirin-like drugs. *Adv Biosci*, **2014**, 9, 395-411.
 218. **Waghray M, Zavros Y, Saqui-Salces M, El-Zaatari M, Alamelumangapuram CB ve ark.** Interleukin-1 β promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog. *Gastroenterology*, **2010**, 138(2), 562-572.
 219. **Wang L, Yang R, Yuan B, Liu Y, Liu C.** The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta pharmaceutica sinica B*, **2015**, 5(4), 310-315.
 220. **Wang Q, Qian Y, Wang Q, Yang YF, Ji S, Song W ve ark.** Metabolites identification of bioactive licorice compounds in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2015**, 115, 515-522.
 221. **Wang S, Wu X, Zhang J, Chen Y, Xu J ve ark.** CHIP functions as a novel suppressor of tumour angiogenesis with prognostic significance in human gastric cancer. *Gut*, **2013**, 62(4), 496-508.
 222. **Warren JR, Marshall B.** Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet*, **1983**, 321(8336), 1273-1275.
 223. **Weeks DL, Eskandari S, Scott DR, Sachs G.** A H⁺-gated urea channel: the link between Helicobacter pylori urease and gastric colonization. *Science*, **2000**, 287(5452), 482-485.
 224. **Werawatganon D.** Simple animal model of Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol*. **2014 Jun 7**;20(21):6420-4.
 225. **WHO Expert Committee on Food Additives, & World Health Organization Joint,(F. A. O., WHO).** Expert Committee on Food Additives, & World Health Organization. *Evaluation of certain food additives: sixty-third report of the Joint FAO*. **2005** , World Health Organization.
 226. **Williams CS, Watson AJ, Sheng H, Helou R, Shao J ve ark.** Celecoxib prevents tumor growth in vivo without toxicity to normal gut: lack of correlation between in vitro and in vivo models. *Cancer research*, **2000**, 60(21), 6045-6051.
 227. **World Health Organisation(WHO).** *WHO Cancer Control Programme [Online]*. Available at: <http://www.who.int/cancer/en> **2015** . Erişim tarihi:10.10.2021.
 228. **Wroblewski LE, Peek RM.** Helicobacter pylori, cancer, and the gastric microbiota. *Stem Cells, Pre-neoplasia, and Early Cancer of the Upper Gastrointestinal Tract*, **2016**, 393-408.
 229. **Wu J, Qin W, Wang Y, Sadik A, Liu J ve ark.** SPDEF is overexpressed in gastric cancer and triggers cell proliferation by forming a positive regulation loop with FoxM1. *Journal of Cellular Biochemistry*, **2018**, 119(11), 9042-9054.
 230. **Xiao Y, Xu J, Mao C, Jin M, Wu Q ve ark.** 18 β -glycyrrhetic acid ameliorates acute Propionibacterium acnes-induced liver injury through inhibition of macrophage inflammatory

- protein-1 α . *Journal of Biological Chemistry*, **2010**, 285(2), 1128-1137.
231. **Yamada S, Kato S, Matsuhisa T, Makonkawkeyoon L, Yoshida M ve ark.** Predominant mucosal IL-8 mRNA expression in non-cagA Thais is risk for gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **2013**, 19(19), 2941.
 232. **Yang L, Cui M, Zhang L, Song L.** FOXM1 facilitates gastric cancer cell migration and invasion by inducing Cathepsin D. *Oncotarget*, **2017**, 8(40), 68180.
 233. **Yang R, Yuan BC, Ma YS, Zhou S, Liu Y.** The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. *Pharmaceutical biology*, **2017**, 55(1), 5-18.
 234. **Yang, ZX, Han ZB, Ji YR, Wang YW, Liang Lve ark.** CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties. *PloS one*, **2013**, 8(3), e59354.
 235. **Yarmohammadi M, Yadegar A, Ebrahimi MT, Zali MR.** Effects of a Potential Probiotic Strain *Lactobacillus gasseri* ATCC 33323 on *Helicobacter pylori*-Induced Inflammatory Response and Gene Expression in Coinfected Gastric Epithelial Cells. *Probiotics Antimicrob Proteins*. **2021** Jun;13(3):751-764.
 236. **Yeo YH, Shiu SI, Ho HJ, Zou B, Lin JT ve ark.** First-line *Helicobacter pylori* eradication therapies in countries with high and low clarithromycin resistance: a systematic review and network meta-analysis. *Gut*, **2018**, 67(1), 20-27.
 237. **Yin X, Gong X, Zhang L, Jiang R, Kuang G ve ark.** Glycyrrhetic acid attenuates lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in d-galactosamine-sensitized mice by up-regulating expression of interleukin-1 receptor-associated kinase-M. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2017**, 320, 8-16.
 238. **Yoon JH, La Cho M, Choi YJ, Back JY, Park MK ve ark.** Gastrokine 1 regulates NF- κ B signaling pathway and cytokine expression in gastric cancers. *Journal of cellular biochemistry*, **2013**, 114(8), 1800-1809.
 239. **Yu JY, Ha JY, Kim KM, Jung YS, Jung JC ve ark.** Anti-inflammatory activities of licorice extract and its active compounds, glycyrrhizic acid, liquiritin and liquiritigenin, in BV2 cells and mice liver. *Molecules*, **2015**, 20(7), 13041-13054.
 240. **Zagari RM, Rabitti S, Eusebi LH, Bazzoli F.** Treatment of *Helicobacter pylori* infection: A clinical practice update. *European journal of clinical investigation*, **2018**, 48(1), e12857.
 241. **Zeng B, Chen C, Yi Q, Zhang X, Wu X ve ark.** N-terminal region of *Helicobacter pylori* CagA induces IL-8 production in gastric epithelial cells via the β 1 integrin receptor. *Journal of Medical Microbiology*, **2020**, 69(3), 457-464.
 242. **Zerbetto De Palma G, Mendiondo N, Wonaga A, Viola L, Ibarra D ve ark.** Occurrence of mutations in the antimicrobial target genes related to levofloxacin, clarithromycin, and amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori* isolates from Buenos Aires City. *Microbial Drug Resistance*, **2017**, 23(3), 351-358.
 243. **Zhang H, Sun SC.** NF- κ B in inflammation and renal diseases. *Cell & bioscience*, **2015**, 5(1), 1-12.
 244. **Zhang J, Cao Y, Wang J, Guo X, Zheng Y ve ark.** Physicochemical characteristics and bioactivities of the exopolysaccharide and its sulphated polymer from *Streptococcus thermophilus* GST-6. *Carbohydrate polymers*, **2016**, 146, 368-375.
 245. **Zhang J, Chen XY, Huang KJ, Wu WD, Jiang T ve ark.** Expression of FoxM1 and the EMT-associated protein E-cadherin in gastric cancer and its clinical significance. *Oncology Letters*, **2016**, 12(4), 2445-2450.
 246. **Zhong Y, Anderl F, Kruse T, Schindele F, Jagusztyn-Krynicka EK ve ark.** *Helicobacter pylori* HP0231 influences bacterial virulence and is essential for gastric colonization. *PLoS One*, **2016**, 11(5), e0154643.
 247. **Zhu X, Lu K, Cao L, Hu Y, Yin Y ve ark.** FoxM1 is Upregulated in Osteosarcoma and Inhibition of FoxM1 Decreases Osteosarcoma Cell Proliferation, Migration, and Invasion. *Cancer Management and Research*, **2020**, 12, 9857.
 248. **Zhu Z, Gong YB, Xu HM.** Neoadjuvant therapy strategies for advanced gastric cancer: current innovations and future challenges. *Chronic diseases and translational medicine*, 6(03), **2020**, 147-157.

ÖZGEÇMİŞ

Erhan TEK İlk ve Orta öğrenimini Ankara’da tamamladıktan sonra 2011 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’na Araştırma Görevlisi olarak atandı. Aynı yıl Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı ve 2022 yılında mezun oldu.