



**ÇEŞİTLİ BİTKİSEL YAĞLARIN HELİCOBACTER PYLORİ'YE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ VE HUVEC HÜCRE DİZİSİ ÜZERİNDEKİ
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe Deniz TANALP

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

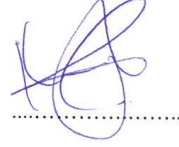
ARALIK 2017

Tuğçe Deniz TANALP tarafından hazırlanan “Çeşitli Bitkisel Yağların *Helicobacter pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkileri ve HUVEC hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Gazi Üniversitesi

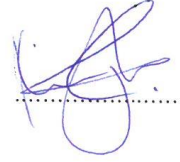
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan : Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye : Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL

İmmünoloji ABD, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Prof. Dr. Işıl Fidan

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye : Prof. Dr. Ayşe Esin AKTAŞ

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi


Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye : Prof. Dr. Teoman Zafer APAN

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 28/12/2017

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Tuğçe Deniz TANALP
28/12/2017

ÇEŞİTLİ BİTKİSEL YAĞLARIN *HELICOBACTER PYLORI*'YE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ VE HUVEC HÜCRE DİZİSİ ÜZERİNDEKİ
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)

Tuğçe Deniz TANALP

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2017

ÖZET

Helicobacter pylori (*H. pylori*) enfeksiyonu en önemli kronik bakteriyel enfeksiyon olarak kabul edilmektedir. İlk defa 1994'de IARC (International Agency for Research on Cancer) tarafından *H. pylori*, 1. sınıf karsinojen olarak açıklanmıştır. Bu nedenle *H. pylori* tedavisi önem taşımaktadır. Son yıllarda tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı bakterinin direnç geliştirdiği rapor edilmiştir. Bu nedenle günümüzde *H. pylori* tedavisinde kullanılan ilaçların yetersiz olduğu düşünülmektedir. Tedavide karşılaşılan bu problemler araştırmacıları tedaviyi destekleyici yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesine yöneltmiştir ve son yıllarda *H. pylori*'ye karşı bitkisel kaynaklı ilaçların araştırılmasına daha fazla önem verilmektedir. Bu nedenle tedavinin başarı oranının yükselmesi ve rekürrens azalması için, toksik olmayan biyoyumlu bitkisel kaynakların araştırılarak sistemik antibiyotik tedavisine ek olarak kullanılması ve eradikasyonun sağlanması son derece önemlidir. Bitkilerden elde edilen yağlar uzun yıllardan beri çeşitli amaçlara yönelik, özellikle ticari ve bilimsel alanlarda kullanılmaktadır. Bitkisel yağlar, eski çağlardan günümüze kadar tedavide kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadır. Kullanım amaçları göz önünde bulundurularak bu bitkisel yağlar üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar sonucunda bazı biyolojik etkinlikleri bilimsel olarak da açıklanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda; genellikle mide ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına iyi geldiği bilinen ve literatürde *H. pylori* üzerinde yapılmış yeterli çalışması bulunmayan çeşitli bitkisel yağlar (*Anemone sp.*, *Anthemis nobilis*, *Citrus limonium*, *Citrus sinensis*, *Cocos nucifera*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Lavandula angustifolia*, *Linum usitatissimum*, *Ricinus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Vitis vinifera*, *Thymus vulgaris*) seçilmiş ve *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkileri ve HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Antimikrobiyal etkinlik mikrodilüsyon yöntemi ile, sitotoksik etkinlik MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide) ve LDH (Laktat Dehidrogenaz) yöntemleri ile incelenmiştir. Sonuç olarak, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının *H. pylori*'ye karşı etkili oldukları saptanmıştır, *Eucalyptus globulus* yağının HUVEC hücre dizisi üzerinde en düşük sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Bilim Kodu : 1.156

Anahtar Kelimeler : *Helicobacter pylori*, Antibakteriyel Aktivite, Bitkisel yağ, MTT, LDH, Sitotoksiste

Sayfa Adedi : 161

Danışman : Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF VARIOUS HERBAL
OILS AGAINST *HELICOBACTER PYLORI* AND THE CYTOTOXIC EFFECTS ON
THE HUVEC CELL LINE

(Ph. D. Thesis)

Tuğçe Deniz TANALP

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2017

ABSTRACT

Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection is accepted as the most important chronic bacterial infection. *H. pylori* is disclosed as 1st class carcinogen by IARC (International Agency for Research on Cancer) for the first time at 1994. Hence, treatment of *H. pylori* is very important. In the recent years, it is reported that the bacteria is developing resistance against the applied antibiotics. So, it is considered that the present drugs in the treatment of *H. pylori* are insufficient. These problems in the treatment directed the researchers to the development of new adjuvant anti bacterial drugs and in the recent years there is increasing interest for the investigation of herbal drugs, against *H. pylori*. Hence, in order to increase success rate, decrease recurrence and achieve eradication, it is very important to investigate non-toxic biocompatible herbal resources to be used in addition to antibiotic therapy. Herbal oils, obtained from plants are being used for various purposes for a long time, particularly in commercial and scientific fields. Herbal oils are used as drugs in the treatment since ancient times. As a result of pharmacological investigations on these herbal oils, some biological activities have been scientifically explained, taking into account their intended use. Therefore, in our study, we chose various herbal oils (*Anemone sp.*, *Anthemis nobilis*, *Citrus limonium*, *Citrus sinensis*, *Cocos nucifera*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Lavandula angustifolia*, *Linum usitatissimum*, *Ricinus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Vitis vinifera*, *Thymus vulgaris*) that are known to be effective against gastric and gastrointestinal tract diseases which do not have adequate investigations over *H. pylori* in the literature and we aimed to investigate their antimicrobial activity over *H. pylori* and cytotoxic activity over HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) cell line. The antimicrobial activity is investigated by microdilution assay and cytotoxic activity is investigated by MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide) and LDH (Lactate Dehydrogenase) assays. As a result, it was found that *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* oils were effective against *H. pylori*, *Eucalyptus globulus* oil had the lowest cytotoxic effect on HUVEC cell line.

Science Code : 1.156

Key Words : *Helicobacter pylori*, Herbal Oil, Antibacterial Activity, MTT, LDH, Cytotoxicity

Page Number : 161

Advisor : Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince değerli görüş ve önerileri ile desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Kayhan Çağlar'a,

Araştırma ve uygulama süreçlerimde her zaman yardımcı olan, kıymetli görüş ve önerileriyle katkı sağlayan sayın Prof. Dr. Ayşegül Atak Yücel, Prof. Dr. Gülderen Yanıkkaya ve Araştırma Görevlisi Başak Aru'ya,

Sonsuz anlayış ve sevgileriyle yanımda olan, beni asla yalnız bırakmayan kıymetli eşim Doç. Dr. Ali Cevat Tanalp, ablam Prof. Dr. Alev Doğan ve annem Emekli Öğretmen Sebiha Karaca'ya tüm samimiyetimle en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xvii
RESİMLERİN LİSTESİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. <i>H. pylori</i> 'nin Tarihçesi.....	5
2.2. <i>H. pylori</i> 'nin Epidemiyolojisi	8
2.3. <i>H. pylori</i> 'nin Bulaşma Yolları	10
2.4. <i>H. pylori</i> 'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri	11
2.5. <i>H. pylori</i> 'nin Kültür, Üreme ve Boyanma Özellikleri.....	12
2.6. <i>H. pylori</i> 'nin Biyokimyasal Özellikleri.....	14
2.7. <i>H. pylori</i> 'nin Moleküler Özellikleri.....	14
2.8. <i>H. pylori</i> 'nin Hücre Duvar Yapısı ve Antijenik Özellikleri.....	15
2.9. <i>H. pylori</i> 'de Hareket.....	16
2.10. <i>H. pylori</i> 'nin Patogenezi.....	17
2.11. <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunda Doğal İmmün Yanıt	18
2.12. <i>H. pylori</i> İle İlişkili Klinik Tablolar	19
2.12.1. Akut gastrit.....	20
2.12.2. Kronik gastrit	20

	Sayfa
2.12.3. Gastrik ülser	21
2.12.4. Peptik ülser.....	22
2.12.5. Gastrik karsinoma	23
2.12.6. Gastrik lenfoma.....	25
2.12.7. Gastro-özofageal reflü hastalığı	26
2.12.8. Fonksiyonel dispepsi	27
2.13. <i>H. pylori</i> Tanısında Kullanılan Yöntemler.....	28
2.13.1. <i>H. pylori</i> tanısında kullanılan örnekler.....	29
2.13.2. İnvaziv yöntemler.....	29
2.13.3. İnvaziv olmayan yöntemler	33
2.14. <i>H. pylori</i> 'de Tedavi ve Direnç.....	35
2.14.1. Re-enfeksiyon	37
2.14.2. Fitoterapi	38
2.15. Çalışmada Yağları Kullanılan Bitkiler	46
2.15.1. <i>Anemone sp.</i>	46
2.15.2. <i>Anthemis nobilis</i>	47
2.15.3. <i>Citrus limonium</i>	49
2.15.4. <i>Citrus sinensis</i>	50
2.15.5. <i>Cocos nucifera</i>	51
2.15.6. <i>Eucalyptus globulus</i>	53
2.15.7. <i>Juniperus communis</i>	54
2.15.8. <i>Lavandula angustifolia</i>	55
2.15.9. <i>Linum usitatissimum</i>	57
2.15.10. <i>Ricinus communis</i>	58
2.15.11. <i>Rosmarinus officinalis</i>	59
2.15.12. <i>Vitis vinifera</i>	61

	Sayfa
2.15.13. <i>Thymus vulgaris</i>	62
2.16. Bitkisel Yağların Sitotoksik Etkilerinin İncelendiği Hücre dizisi.....	63
3. GEREÇ VE YÖNTEM	65
3.1. Materyal.....	65
3.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar	65
3.1.2. Çalışmada kullanılan kit ve kimyasallar	66
3.1.3. Çalışmada kullanılan <i>H. pylori</i> suşu	66
3.1.4. Çalışmada kullanılan hücre dizisi	66
3.1.5. Çalışmada kullanılan bitkisel yağlar	67
3.1.6. Antimikrobiyal çalışmada kullanılan çözelti ve besiyerlerinin hazırlanması	73
3.1.7. Sitotoksisite çalışmasında kullanılan çözelti ve besiyerlerinin hazırlanması	75
3.2. Yöntem.....	76
3.2.1. Antimikrobiyal deneyler	76
3.2.2. Sitotoksisite deneyleri.....	78
3.2.3. İstatistiksel değerlendirmeler.....	82
4. BULGULAR	83
4.1. Antimikrobiyal Deney Sonuçları	83
4.1.1. <i>H. pylori</i> kültürü	83
4.1.2. <i>H. pylori</i> 'nin kültür örneklerinden gram boyama, üreaz ve katalaz ile incelenmesi	84
4.1.3. <i>H. pylori</i> büyüme eğrisi	85
4.1.4. Bitkisel yağların antibakteriyel etkinlik sonuçları	86
4.2. Sitotoksisite Deney Sonuçları	88
4.2.1. Sitotoksisite deneyleri sonucunda ölçülen absorbans ve istatistiksel değerler	89
5. TARTIŞMA	117

	Sayfa
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	133
KAYNAKLAR.....	137
ÖZGEÇMİŞ	161

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>H. pylori</i> 'nin sınıflandırılması	8
Çizelge 2.2. <i>H. pylori</i> 'nin özellikleri	12
Çizelge 2.3. <i>H. pylori</i> 'nin biyokimyasal özellikleri	14
Çizelge 2.4. <i>H. pylori</i> tanısında kullanılan testler	28
Çizelge 2.5. <i>H. pylori</i> 'nin antimikrobiyal direnç sıklığı	36
Çizelge 2.6. <i>H. pylori</i> eradikasyonu için önerilen tedaviler	37
Çizelge 2.7. Bazı bitkilerin anti <i>H. pylori</i> aktiviteleri.....	40
Çizelge 2.8. Bazı uçucu yağların anti <i>H. pylori</i> aktiviteleri.....	43
Çizelge 2.9. <i>Anemone sp.</i> Bilimsel sınıflandırılması	47
Çizelge 2.10. <i>Anthemis nobilis</i> bilimsel sınıflandırılması	47
Çizelge 2.11. <i>Citrus limonium</i> bilimsel sınıflandırılması	49
Çizelge 2.12. <i>Citrus sinensis</i> bilimsel sınıflandırılması	50
Çizelge 2.13. <i>Cocos nucifera</i> bilimsel sınıflandırılması.....	52
Çizelge 2.14. <i>Eucalyptus globulus</i> bilimsel sınıflandırılması.....	53
Çizelge 2.15. <i>Juniperus communis</i> bilimsel sınıflandırılması	54
Çizelge 2.16. <i>Lavandula angustifolia</i> bilimsel sınıflandırılması	55
Çizelge 2.17. <i>Linum usitatissimum</i> bilimsel sınıflandırılması	57
Çizelge 2.18. <i>Ricinus communis</i> bilimsel sınıflandırılması	58
Çizelge 2.19. <i>Rosmarinus officinalis</i> bilimsel sınıflandırılması	60
Çizelge 2.20. <i>Vitis vinifera</i> bilimsel sınıflandırılması.....	61
Çizelge 2.21. <i>Thymus vulgaris</i> bilimsel sınıflandırılması.....	62
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan uçucu ve sabit yağlar.....	67
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan uçucu ve sabit yağların menşei ve üreticileri.....	67
Çizelge 3.3. <i>Anemone sp.</i> kimyasal bileşenleri.....	68
Çizelge 3.4. <i>Anthemis nobilis</i> kimyasal bileşenleri	68

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.5. <i>Citrus limonium</i> kimyasal bileşenleri	69
Çizelge 3.6. <i>Citrus sinensis</i> kimyasal bileşenleri.....	69
Çizelge 3.7. <i>Cocos nucifera</i> kimyasal bileşenleri	70
Çizelge 3.8. <i>Eucalyptus globulus</i> kimyasal bileşenleri.....	70
Çizelge 3.9. <i>Juniperus communis</i> kimyasal bileşenleri	71
Çizelge 3.10. <i>Lavandula angustifolia</i> kimyasal bileşenleri	71
Çizelge 3.11. <i>Linum usitatissimum</i> kimyasal bileşenleri	72
Çizelge 3.12. <i>Ricinus communis</i> kimyasal bileşenleri	72
Çizelge 3.13. <i>Rosmarinus officinalis</i> kimyasal bileşenleri	72
Çizelge 3.14. <i>Vitis vinifera</i> kimyasal bileşenleri.....	73
Çizelge 3.15. <i>Thymus vulgaris</i> kimyasal bileşenleri.....	73
Çizelge 4.1. Bitkisel yağların <i>H. pylori</i> 'ye karşı MİK ve MBK değerleri.....	88
Çizelge 4.2. <i>Anemone sp.</i> 'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri.....	89
Çizelge 4.3. <i>Anemone sp.</i> 'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri.....	89
Çizelge 4.4. <i>Anemone sp.</i> 'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	90
Çizelge 4.5. <i>Anemone sp.</i> 'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	90
Çizelge 4.6. <i>Anthemis nobilis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri.....	91
Çizelge 4.7. <i>Anthemis nobilis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri.....	91
Çizelge 4.8. <i>Anthemis nobilis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	91
Çizelge 4.9. <i>Anthemis nobilis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	91
Çizelge 4.10. <i>Citrus limonum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri.....	92

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. <i>Citrus limonum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	92
Çizelge 4.12. <i>Citrus limonum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	92
Çizelge 4.13. <i>Citrus limonum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	93
Çizelge 4.14. <i>Citrus sinensis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	93
Çizelge 4.15. <i>Citrus sinensis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	93
Çizelge 4.16. <i>Citrus sinensis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	94
Çizelge 4.17. <i>Citrus sinensis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	94
Çizelge 4.18. <i>Cocos nucifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	94
Çizelge 4.19. <i>Cocos nucifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	94
Çizelge 4.20. <i>Cocos nucifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	95
Çizelge 4.21. <i>Cocos nucifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	95
Çizelge 4.22. <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	95
Çizelge 4.23. <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	96
Çizelge 4.24. <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	96
Çizelge 4.25. <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	96
Çizelge 4.26. <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	97
Çizelge 4.27. <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	97

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.28. <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	97
Çizelge 4.29. <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	97
Çizelge 4.30. <i>Lavandula angustifolia</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	98
Çizelge 4.31. <i>Lavandula angustifolia</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	98
Çizelge 4.32. <i>Lavandula angustifolia</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	98
Çizelge 4.33. <i>Lavandula angustifolia</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	99
Çizelge 4.34. <i>Linum usitatissimum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	99
Çizelge 4.35. <i>Linum usitatissimum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	99
Çizelge 4.36. <i>Linum usitatissimum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	100
Çizelge 4.37. <i>Linum usitatissimum</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	100
Çizelge 4.38. <i>Ricinus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	100
Çizelge 4.39. <i>Ricinus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	101
Çizelge 4.40. <i>Ricinus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	101
Çizelge 4.41. <i>Ricinus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	101
Çizelge 4.42. <i>Rosmarinus officinalis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	102
Çizelge 4.43. <i>Rosmarinus officinalis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	102
Çizelge 4.44. <i>Rosmarinus officinalis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	102

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.45. <i>Rosmarinus officinalis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	102
Çizelge 4.46. <i>Vitis vinifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	103
Çizelge 4.47. <i>Vitis vinifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	103
Çizelge 4.48. <i>Vitis vinifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	103
Çizelge 4.49. <i>Vitis vinifera</i> 'nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	104
Çizelge 4.50. <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri	104
Çizelge 4.51. <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	104
Çizelge 4.52. <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri	105
Çizelge 4.53. <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri	105
Çizelge 4.54. <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Juniperus communis</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	105
Çizelge 4.55. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	106
Çizelge 4.56. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	106
Çizelge 4.57. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	107
Çizelge 4.58. <i>Thymus vulgaris</i> ve <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	107
Çizelge 4.59. <i>Thymus vulgaris</i> ve <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması	108

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.60. <i>Juniperus communis</i> ve <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması.....	108
Çizelge 4.61. <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Juniperus communis</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	109
Çizelge 4.62. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Thymus vulgaris</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	109
Çizelge 4.63. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	109
Çizelge 4.64. <i>Rosmarinus officinalis</i> ve <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	110
Çizelge 4.65. <i>Thymus vulgaris</i> ve <i>Juniperus communis</i> 'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	110
Çizelge 4.66. <i>Juniperus communis</i> ve <i>Eucalyptus globulus</i> 'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	110
Çizelge 4.67. <i>H. pylori</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının absorbans değerleri.....	111
Çizelge 4.68. <i>H. pylori</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel değerleri	112
Çizelge 4.69. <i>H. pylori</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri.....	113
Çizelge 4.70. <i>H. pylori</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri	114

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>H. pylori</i> 'nin varsayılan modern ve antik dönem migrasyonu	6
Şekil 2.2. <i>H. pylori</i> enfeksiyonu ve patogenezinin şematik diyagramı	18
Şekil 2.3. Gastrik karsinogenez ve <i>H. pylori</i> arasındaki ilişki.....	25
Şekil 2.4. <i>H. pylori</i> ile fonksiyonel dispepsi arasındaki ilişki	28
Şekil 2.5. <i>H. pylori</i> üreaz aktivitesi.....	32
Şekil 3.1. Formazan kristallerinin oluşum reaksiyonu.....	79
Şekil 3.2. LDH enzimi varlığında, laktattan piruvat oluşumu ile eş zamanlı olarak NAD ⁺ redüksiyonu sonucu NADH/H ⁺ oluşumu	81
Şekil 4.1. <i>H. pylori</i> büyüme eğrisi	86
Şekil 4.2. <i>H.pylori</i> 'ye karşı antimikrobiyal etki gösteren yağların MİK ve MBK değerleri	88
Şekil 4.3. <i>Eucalyptus globulus, Juniperus communis, Rosmarinus officinalis,</i> <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % canlılık oranlarının karşılaştırılması	115
Şekil 4.4. <i>Eucalyptus globulus, Juniperus communis, Rosmarinus officinalis,</i> <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT yöntemi ile ölçülen 48. saatteki % canlılık oranlarının karşılaştırılması	115
Şekil 4.5. <i>Eucalyptus globulus, Juniperus communis, Rosmarinus officinalis,</i> <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % sitotoksosite oranlarının karşılaştırılması	116
Şekil 4.6. <i>Eucalyptus globulus, Juniperus communis, Rosmarinus officinalis,</i> <i>Thymus vulgaris</i> yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki LDH yöntemi ile değerlendirilen 48. saatteki % sitotoksosite oranlarının karşılaştırılması	116

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Anemone sp.</i>	47
Resim 2.2. <i>Anthemis nobilis</i>	49
Resim 2.3. <i>Citrus limonium</i>	50
Resim 2.4. <i>Citrus cinensis</i>	51
Resim 2.5. <i>Cocos nucifera</i>	53
Resim 2.6. <i>Eucalyptus globulus</i>	54
Resim 2.7. <i>Juniperus communis</i>	55
Resim 2.8. <i>Lavandula angustifolia</i>	56
Resim 2.9. <i>Linum usitatissimum</i>	58
Resim 2.10. <i>Ricinus communis</i> bitkisi ve tohumu	59
Resim 2.11. <i>Rosmarinus officinalis</i>	61
Resim 2.12. <i>Vitis vinifera</i> çekirdeği	62
Resim 2.13. <i>Thymus vulgaris</i>	63
Resim 4.1. <i>H. pylori</i> 'nin Brucella agardaki görüntüsü.....	83
Resim 4.2. <i>H. pylori</i> 'nin Brucella broth besiyerindeki görüntüsü	83
Resim 4.3. Karıştırıcı inkübatörde <i>H. pylori</i> inkübasyonu	84
Resim 4.4. Kültürden izole edilen <i>H. pylori</i> 'nin Gram boyama görüntüsü	84
Resim 4.5. <i>H. pylori</i> 'nin hızlı üreaz testi ile tanımlanması	85
Resim 4.6. <i>H. pylori</i> 'nin lamel üzerinde katalaz testi ile tanımlanması.....	85
Resim 4.7. Bitkisel yağının <i>H. pylori</i> 'ye karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunun mikro dilüsyon yöntemiyle değerlendirilmesi.....	86
Resim 4.8. <i>Eucalyptus globulus</i> , MBK: 1/16 konsantrasyonda.....	87
Resim 4.9. <i>Juniperus communis</i> , MBK: 1/128 konsantrasyonda	87
Resim 4.10. <i>Rosmarinus officinalis</i> , MBK: 1/16 konsantrasyonda	87
Resim 4.11. <i>Thymus vulgaris</i> , MBK: 1/64 konsantrasyonda.....	87
Resim 4.12. HUVEC hücrelerinin 24 saatlik kültürlerinin görüntüsü.....	89

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat derece
cm ²	Santimetrekare
gr	Gram
kDa	Kilo dalton
mg	Miligram
mm	Milimetre
N	Normal
nm	Nanometre
α	Alfa
β	Beta
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
Kısaltmalar	Açıklamalar
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Herath Infusion
C	Sitozin
CLO	<i>Campylobacter</i> Like Organism
CO ₂	Karbondioksit
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPBS	Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tampon Solüsyonu)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EOs	Essential Oils (Uçucu yağlar)

Kısaltmalar	Açıklamalar
FBS	Fetal Bovine Serum (Sığır Fetal Serum)
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
G	Guanin
H₂O	Su
HE	Hematoksilen Eozin
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cells (İnsan umblikal ven endotel hücreleri)
IFN	İnterferon
Ig	İmmün globulin
IL	İnterlökin
KOH	Potasyum Hidroksit
LDH	Laktat Dehidrogenaz
MIC	Minimum Inhibitory Concentration (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu)
MTT	3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide)
N₂	Nitrojen
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standards
NCTC	National Collection of Type Cultures
NRA	Nitrate Reductase Assay
O₂	Oksijen
OOR	Oxogluterate: Acceptor Oxidoreductase
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
POR	Pyruvate ferredoxin oxidoreductase
PPI	Proton Pompa İnhibitörü
RNA	Ribonükleik asit
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
WHO	World Health Organisation

1. GİRİŞ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) ile sindirim sisteminde bulunan diğer helikobakterlerin ilk canlı organizmalar kadar eski oldukları ve büyük memeliler ile ilk primatların sindirim sistemlerinde temel flora bakterisi olarak yerleştikleri düşünülmektedir [1]. Laboratuvar ortamında ilk kez 1982 yılında üretilebilen *H. pylori*'nin, *Campylobacter* cinsine olan benzerliklerinden dolayı bu cinse ait olduğu düşünülmüş ve *Campylobacter pyloridis* olarak tanımlanmıştır [2]. Ancak daha sonra yapılan araştırmalarla pekçok fenotipik ve genotipik özelliklerinin *Campylobacter* cinsinden farklı olduğu ortaya konulmuş ve bu nedenle bu yeni cinse *Helicobacter* ismi verilmiştir [3]. Oldukça hareketli, gram negatif ve spiral şekilli olan *H. pylori*'nin ülser ya da gastrit hastalığı olan kişilerde mide mukozal epitelinin üzerinde bulunan mukus tabakasında kolonize olduğu saptanmıştır [4]. Marshall ve Warren yaptıkları çalışmada, besiyeri yüzeyinde spiral şekilli mikroorganizmaların oluşturduğu kolonileri keşfetmişler ve sonrasında 11 hastadan daha aldıkları biyopsi örneklerinde spiral mikroorganizmaları üretmeyi başaran araştırmacılar, gastrik mukozada iltihap oluşumuna ve özellikle de kronik aktif gastrit için karakteristik olan mide yüzeyinde por oluşumuna bu bakterilerin neden olabileceğini vurgulayarak, bazı gastroduodenal hastalıkların oluşumunun bu bakteriler ile ilişkili olabileceği sonucunu ortaya koymuşlardır. Bu spiral şekilli mikroorganizma ile gastroduodenal hastalıklar arasındaki ilişkinin ispatlanması 20. yy. tıbbına damgasını vuran önemli gelişmelerden birisi olarak kabul edilmektedir.

Günümüzde *H. pylori* enfeksiyonu en önemli kronik bakteriyel enfeksiyon ve kronik gastritin en önemli etkeni olarak kabul edilmektedir. Tedavi edilmediği takdirde yaşam boyu midede varlığını sürdürebilen *H. pylori*'nin peptik ülser, gastrit, gastrik kanser ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoması gibi hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Avrupa *H. pylori* çalışma grubunun 2005 yılı III. Maastricht Konsensus raporlarına göre gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere oranla daha az görüldüğü, gelişmiş ülkelerde bu oran % 20-% 30 iken gelişmekte olan ülkelere % 85-% 95 olduğu ve dünya nüfusunun % 50'sinden fazlasının bu bakteri ile enfekte olduğu bildirilmiştir. İlk defa 1994'de IARC (International Agency for Research on Cancer) tarafından *H. pylori*, 1.sınıf karsinogen olarak açıklanmıştır. Bu nedenle *H. pylori* tedavisi oldukça önem taşımaktadır. *H. pylori*'nin primer rezervuarı insan mide mukozasıdır. Fakat bu bölgeye geçiş yolu, geçiş yolunu etkileyen faktörler ve geçiş oranları hala araştırılmaktadır.

Enfeksiyonun tedavisi hastalara 7-10 gün süre ile uygulanan “triple therapy” olarak bilinen kombine antibiyotik tedavisidir. Klaritromisin ve amoksisilin (ya da metronidazol), proton pompası inhibitörleri ile kombine olarak uygulanmaktadır ancak bu tedavi %100 eradikasyon sağlamamaktadır. Bu tedavi protokolü Avrupa *Helicobacter pylori* Çalışma Grubu’nun 1997 yılındaki raporu ile belirlenmiştir. Başlangıçta bu kombinasyonun başarısı çok yüksek olmuştur fakat son yıllarda başarı oranları düşmüş ve rekürrensler artmıştır. Burada, antibiyotik direnci, hasta uyumu, bakteri virulansı ve yoğunluğu, coğrafi özellikler, genetik farklılıklar gibi pek çok faktör olduğu düşünülmektedir [5].

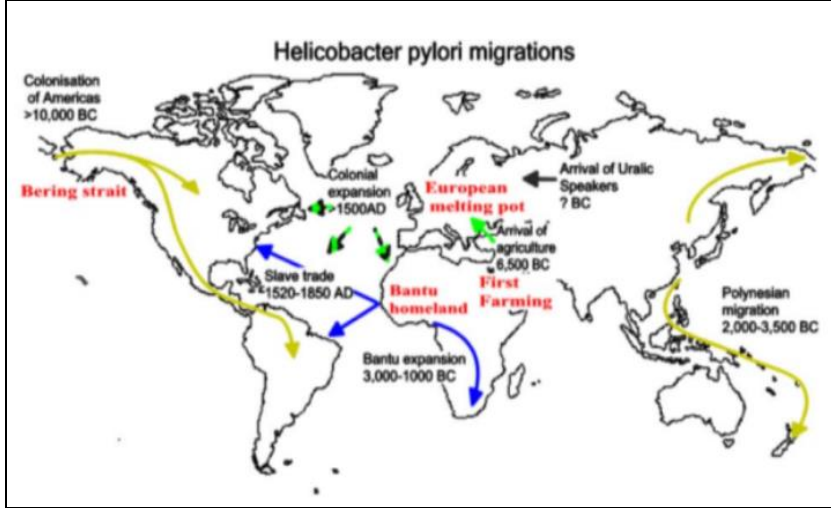
H. pylori ilk olarak Krajden ve Shames tarafından 1989 yılında oral floradan izole edilmiş [6] daha sonra Majmudar ve arkadaşları 1990 yılında dental plakta [7], Dowsett ve arkadaşları 1999 yılında dilin dorsumunda [8] ve Oshowo ve arkadaşları 1998 yılında tükürükte [9] tespit etmişler ve oral kavitenin mide mukozası gibi rezervuar olabileceğini düşünmüşlerdir. Günümüzde kullanılan sistemik antibiyotik tedavisi mide üzerinde etkili olsa da, antibiyotikler dental plak biyofilmine penetre olamadığı için eradikasyonda başarı sağlanamamaktadır [10]. Bu durum gelişmiş batı ülkelerinde, tedavideki başarının kabul edilemez oranlarda düştüğü yönünde bildirilmiştir. Bu nedenle günümüzde *H. pylori* tedavisinde kullanılan ilaçların yetersiz olduğu düşünülmektedir. Tedavide karşılaşılan bu problemler araştırmacıları tedaviyi destekleyici yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesine yöneltmiştir. *H. pylori*’ye karşı yeni anti bakteriyel ilaçların, özellikle bitkisel kaynaklı ilaçların araştırılmasına daha fazla önem verilmektedir. Bu nedenle tedavinin başarı oranının yükselmesi ve rekürrensini azaltması için, toksik olmayan biyoyoumlu bitkisel kaynakların araştırılarak sistemik antibiyotik tedavisine ek olarak kullanılması ve eradikasyonun sağlanması son derece önemlidir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar uzun yıllardan beri çeşitli amaçlara yönelik, özellikle ticari ve bilimsel alanlarda kullanılmaktadır. Geniş kullanım alanına sahip olan bitkisel yağlar son yıllarda pek çok bilim adamının ilgi konusu olmuş ve yapıları incelenerek biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Günümüzde tıbbi bitkiler ve bu bitkilerin uçucu yağlarının araştırılması hem bilimsel hem de ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Bitkisel yağlar, eski çağlardan günümüze kadar tedavide kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadır. Halk tıbbında kullanım amaçları göz önünde bulundurularak bu bitkisel yağlar üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar sonucunda bazı biyolojik etkinlikleri bilimsel olarak da açıklanmıştır [11,12]. Bu nedenle çalışmamızda; halk tıbbında genellikle mide ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına iyi geldiği bilinen ve literatürde *H. pylori* üzerinde

yapılmış yeterli çalışması bulunmayan çeşitli bitkisel yağlar seçilmiş ve *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri ile HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bitkisel yağların *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri mikrodilüsyon yöntemi ile, HUVEC hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkileri MTT ve LDH yöntemleri ile incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *H. pylori*'nin Tarihçesi

Paleopatolojik çalışmalar *H. pylori*'nin yüz bin yılı aşkın bir süredir insanları enfekte ettiğine dair bilgiler ortaya koymaktadır. Alp Dağları'nın Tisenjoch mevkiinde, 19 Eylül 1991 tarihinde dağcılar tarafından üç bin ikiyüz sekiz metre yükseklikte donmuş halde beş bin üçyüz yıllık bir mumya tesadüfen bulunmuş ve yapılan DNA analiz çalışmaları neticesinde Maixner ve arkadaşları mumyanın midesinde *H. pylori* varlığını saptamışlardır [13]. Allison ve arkadaşlarının mumyalaşmış insan kalıntılarında antijenik materyalin sağkalımını araştırdıkları bir çalışmada, Güney Amerika'nın Andean bölgesinde fekal örneklerin yaklaşık üç bin yıllık *H. pylori* antijenlerini barındırdığını saptamışlardır [14]. Latin Amerikalı hastalardan izole edilen *H. pylori* suşlarının genotipik analizine dayanan çalışmalarda Avrupa genotiplerinin varlığı gösterilmiştir [15, 16]. Kersulyte ve arkadaşları, Avrupa ve Güney Amerika'daki baskın genotipler arasında büyük benzerlik olduğunu saptamışlar ve *H. pylori*'nin yenedünyaya yaklaşık beşyüz yıl önce Avrupalı fatihler ve sömürgeciler tarafından getirilmiş olabileceğini öne sürmüşlerdir [17]. Ghose ve arkadaşları, bugünkü Amerikan yerlilerinin atalarının Asya'dan en az onbir bin yıl önce Bering boğazını geçerken midelerinde *H. pylori* taşıdığına dair bulgular saptamışlardır. [18]. Bu bulgular, Kolombiya'da yaşayan ve Avrupalılarla çok az ya da hiç teması olmayan Amerikan yerlilerinden *H. pylori* suşlarını izole eden Yamaoka ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur. [19]. Bir başka araştırmada Falusg ve arkadaşları ile Linzet ve arkadaşları farklı etnik kökenlerden kaynaklanan *H. pylori* izolatlarını çalışmışlardır. Bu araştırmacılar *H. pylori* suşlarını farklı coğrafi dağılımda yedi toplum ve alt toplum kümesine atamışlar ve bu modern toplumların gen havuzlarını Afrika, Merkezi Asya ve Doğu Asya'dan köken alan erken topluluklardan aldıklarını öne sürmüşlerdir. Bu durumu takip eden yayılımlar, Polinezya ve Amerika kıtalarındaki tarih öncesi kolonizasyona bağlı olduğu gibi insanların göç akımlarına da bağlı olduğunu düşündürmektedir (Şekil 2.1) [20].



Şekil 2.1. *H. pylori*'nin varsayılan modern ve antik dönem migrasyonu. Oklar insanların ve *H. pylori* popülasyonlarının göçlerini göstermektedir

H. pylori ile ilişkili gastroduodenal hastalıkların tanımlanması tıp tarihinde çok eski zamanlara dayanmaktadır. Gastrik rahatsızlıkların bir bakteri ile olası ilişkisi ilk kez Alman Bottcher ve Fransız Letulla isimli bilim adamları tarafından ileri sürülmüştür. Bottcher ve Letulla, mide biyopsi örneklerinde gördükleri fakat üretmedikleri bakteriler olduğunu tarif etmişlerdir [21]. 1889 yılında Jaworski, otopsi sonucunda bireylerin mide sularının sedimentinde spiral şekilli bakteriler tanımlamış ve gastrik patoloji ile ilişkili olduklarını ileri sürerek bu bakterileri *Vibrio regula* olarak adlandırmıştır [22]. 1906 yılında Krienitz W. benzer mikroorganizmaları mide kanserli hastaların biyopsi örneklerinde göstermiştir [21]. 1924 yılında Luck, bazı memelilerin midelerinde üreaz enziminin bulunduğunu tespit etmişlerdir [23]. 1950 yılında Fitzgerald ve Murphy, peptik ülser ile mide mukozasındaki üreaz aktivitesinin ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir [24]. 1959 yılında Liebre ve Le-Fevre, tetrasiklin kullanımı sonrasında üreaz aktivitesinin kaybolmasına bağlı olarak, üreaz aktivitesinin bakteriyel kaynaklı olduğunu iddia etmişlerdir [25]. 1968 yılında Delluva ve arkadaşları, germ-free memelilerde üreaz aktivitesinin bakteriyel kaynaklı olduğunu ispatlamışlardır [26]. 1975 yılında Ster ve Collin-Jones, mide ülserli hastalardan alınan biyopsi materyallerinin % 80'inde sağlıklı midede bulunmayan, Gram negatif spiral şekilli bakterilerin bulunduğunu göstermişlerdir [27]. Bu bakterileri ilk defa 1983 yılında Robin Warren ve Barry J. Marshall, 4 yıllık çalışma sonunda kültür ortamında üretebilmişler ve çalışmalarını Lancet dergisinde yayınlanan makaleleri ile tıp dünyasına duyurmuşlardır [28]. Marshall ve Warren, histolojik incelemeler sonucunda gördükleri basillerin Gram negatif kıvrımlı vibriolara benzemesinden dolayı bakterinin izolasyonunda öncelikle *Campylobacter* türlerinin izolasyonu için kullanılan yöntemleri uygulamışlardır. Ancak

ekilen biyopsi örneklerini *Campylobacter* türleri için geçerli olan 48 saatlik inkübasyona bırakmaları sonucunda yaptıkları ilk 30 kültür denemesi başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Çalışmanın paskalya tatiline denk gelmesi nedeniyle, kültürlerden birisi beş günlük tatil süresi boyunca inkübasyonda unutulmuş ve sonuçta besiyerinin yüzeyinde spiral şekilli mikroorganizmalara ait gözle görünür koloniler oluşmuştur. Sonrasında 11 hastadan alınan biyopsi örneklerinde de spiral mikroorganizmaları üretmeyi başaran araştırmacılar bu bakteriyi *Campylobacter pyloridis* olarak adlandırmışlardır. Devam eden çalışmalarında, Barry J. Marshall kültür ortamında ürettikleri bakteri süspansiyonunu içerek Koch postulatını gerçekleştirmiştir. Sonrasında, gastrik ağrı ve yanma olduğu, histopatolojik ve klinik bulgulara dayanarak akut yüzeysel gastrit ile uyumlu tablonun geliştiği ve akut enflamatuvar cevabın başladığı tespit edilmiştir. Marshall, 14 gün süren antibiyotik tedavisi ile kendi kendini tedavi ederek Koch postulatını tamamlamıştır. Gastrik mukozadaki inflamasyonun ve özellikle kronik aktif gastrit için karakteristik olan polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonunun birlikteliğini vurgulayan araştırmalar ile spiral şekilli Gram negatif bakterilerle gastroduodenal patoloji arasında ilişkili olduğu açık bir şekilde ortaya koyulmuştur. Bu önemli çalışmaları sonucunda, Marshall ve Warren 2005 yılında Nobel Tıp ödülünü kazanmışlardır [29].

Yapılan çalışmalar sonucunda, kültürde üretilen bakteri her ne kadar morfolojik özellikleri ile *Campylobacter* cinsine benzemesinden dolayı *Campylobacter pyloridis* olarak adlandırılrsa da, 16S rRNA dizi analizi çalışmaları, büyüme özellikleri, yağ asidi profilleri, nükleik asit hibridizasyon profilleri ve enzimatik aktivitelerinin tespitine yönelik çalışmalar sonucunda bu bakterinin *Campylobacter*, *Wolinella* ve *Flexispira* cinslerinden birine ait olmadığını ortaya konulmuştur. Bakterinin spiral şekilli olması ve çoğunlukla midenin pilor bölgesinde kolonize olması nedeniyle yeni bir cinse ait olduğu saptanmış ve *Helicobacter pylori* olarak adlandırılmıştır [30] (Çizelge 2.1). Yapılan çalışmalar sonucunda, *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyonu ile MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tumors) ve gastrik adenokarsinomalar arasındaki ilişki gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün bir kolu olan Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer) tarafından 1994 yılında ilk defa bir bakteri Tip I karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. Aynı yıl, Dünya Sağlık Örgütü konsensusunda peptik ülser hastalığının en önemli nedeninin *H. pylori* olduğu bildirilmiştir [29, 30].

Çizelge 2.1. *H. pylori*'nin sınıflandırılması

Alem, (Domain / empire)	<i>Bacteria</i>
Şube, (Division / phylum)	<i>Proteobacteria</i>
Sınıf, (Class)	<i>Epsilon proteobacteria</i>
Takım, (Order)	<i>Campylobacterales</i>
Aile, (Family)	<i>Helicobacteraceae</i>
Cins, (Genus)	<i>Helicobacter</i>
Tür, (Species)	<i>Helicobacter pylori</i>

2.2. *H. pylori*'nin Epidemiyolojisi

H. pylori, tüm bakteriyel enfeksiyonlar içinde en yüksek prevalansa sahip olan ve kronik gastritin en önemli etkeni olarak kabul edilen bakteridir. Dünya nüfusunun % 50'den fazlasının *H. pylori* ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Enfekte insanların % 85-95'inde bakteri herhangi bir klinik yakınma gözlenmeden, midenin antrum ve/veya korpus bölgelerinde, mukus tabakası içerisindeki glikozillenmiş yapılara bağlanarak kolonize olmaktadır. Çoğunlukla asemptomatik olsa da, *H. pylori* ile enfekte hastaların hemen tümünde mide fonksiyonlarında değişiklikler gözlenmektedir. Hastalarının % 15-20'sinde peptik ülser, % 2-12'sinde komplike ülser, % 1-3'ünde mide kanseri ve % 0,1'inde primer mide lenfoması görülmektedir. Ayrıca enfekte hastaların % 20-30'unda yaşamı tehdit eden komplikasyonlar gözlenmektedir. Yeterli veri olmasa da gastrik mukoza ilişkili lenfoid dokunun non-Hodgkin lenfoması ile *H. pylori* enfeksiyonu arasında da bir ilişki olduğu düşünülmektedir [31-34].

H. pylori ile ilişkili kronik ürtiker gibi sindirim sistemi dışı ve dermatolojik vakalar da bulunmaktadır. Bu durumun; sedef hastalığı, rosasea, Sjögren sendromu, mide kaplamasının geçirgenliğinde artış ve allerjenler gibi durumlara maruziyet nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir [35].

H. pylori'nin mide mukozasındaki prevalansı ve insidansı, ülkeler arasında, gelişmişlik oranlarına ve yaşa göre farklılıklar göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve bazı batı toplumları gibi gelişmiş ülkelerde enfeksiyon sıklığı çocuklarda % 0-5, 20 yaş popülasyonunda % 10-20 iken erişkinlerde % 30-50'ye ulaşmaktadır. Çocukluk çağındaki sosyo-ekonomik durum ile enfeksiyon prevalansı arasında net bir ilişki mevcuttur. Sosyo-ekonomik durumlardaki düzelmeye bağlı olarak *H. pylori* enfeksiyonunun prevalansında düşüş gözlenmekte ve bu durum gelişmiş batı toplumlarında peptik ülser ve mide kanseri oranlarının azalmasına neden olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde genellikle 40 yaş altı bireyler

enfekte değildir ve *H. pylori* prevalansı belirgin oranda düşüktür (% 5-20) [36]. Bunun yanında, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori* enfeksiyonu daha sık görülmektedir. Batı Afrika'da yaşayan ve henüz 5 yaşına gelmemiş çocukların % 80'inin *H. pylori* ile enfekte olacağı öngörülmektedir. Yetersiz sosyo-ekonomik koşullar, hijyenik olmayan içme suları ve sağlıksız koşullarda hazırlanmış gıda maddeleri tüketimi, çocukluk çağındaki kalabalık aile ortamı, ebeveynlerin *H. pylori* taşıması, aynı yatağın ve yemeğin paylaşımı, yurt, yetimhane gibi kalabalık ortamlarda yaşamak, enfekte mide içeriğine maruz kalınması (endoskopist, hemşire vs.), gibi durumlar 5-10 yaş arası çocuklarda % 60-70 arası, erişkinlerde ise % 85-90 arası olan enfeksiyon insidansından sorumludur [37,38]. Avrupa *H. pylori* çalışma grubunun 2009 yılı çalıştayında 2008-2009 yılları arasında dünya da yapılan epidemiyolojik çalışmaları değerlendiren raporda Avustralya'da yaşayan mülteci çocuklar içinde Japon çocuklarda *H. pylori* prevalansının % 4 iken, Afrikalı çocuklarda bu prevalansın % 82'ye ulaştığı bildirilmiştir. Avustralyalı hastalarda, Malezyalı kan donörlerinde, Çinli ve Japon öğrencilerde % 15 veya daha düşük *H. pylori* prevalansı bildirilmiştir [39-43]. 2010 yılı çalıştay için hazırlanan epidemiyoloji raporuna göre Çek Cumhuriyeti'nde asemptomatik çocuklarda yapılan çalışmada prevalansın % 7 olduğu. Doğu Cape eyaletinde yaşayan Güney Afrika'lılarda bu oranın % 87 olduğu bildirilmiştir. Avrupa'da yapılan çalışmalarda prevalans % 7 ile % 33 arasında [44,45]. Güney Amerika'da yapılan çalışmalarda % 48 ile % 78 arasında [46] ve Asya'da yapılan çalışmalarda % 37,5 ile % 66 arasında değişmekte olduğu bildirilmiştir [47,48]. Ülkemizde de *H. pylori* enfeksiyonu ciddi bir sağlık problemidir ve dispeptik hastalar arasında yüksek bir prevalansa sahiptir. On yıl önce 14 yaş altı çocuklarda oran % 78 iken 2000 yılında % 62 olarak bildirilmiştir [38]. Bu konuda Özden ve arkadaşlarının 1992 yılında yapmış oldukları bir çalışmada *H. pylori* pozitif serolojiye sahip kişilerin yaşlara göre dağılımı şu şekildedir: 7-12 yaş grubunda % 79, 13-18 yaş grubunda % 83, 19-24 yaş grubunda % 75, 25-29 yaş grubunda % 96, 30-34 yaş grubunda % 91, 35-39 grubunda % 83, 40-65 yaş grubunda ise % 94, Abasıyanık ve arkadaşlarının 1-82 yaş arasındaki 309 kişide yaptığı bir çalışmada ise serum *H. pylori* IgG antikor seroprevalansının yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada 1-9 yaş arasındaki olgularda antikor prevalansı % 42 iken 60-69 yaş arasındaki olgularda antikor prevalansı % 100 olarak bulunmuştur [49,50].

2.3. *H. pylori*'nin Bulaşma Yolları

H. pylori'nin kesin bulaş yolu henüz aydınlatılamamıştır. *H. pylori*'nin primer rezervuarı olan gastrik mukozaya bulaşması, insandan insana bulaşma yolu ve oranı net olmamakla beraber, bulaş yolunun fekal-oral ve oral-oral yollar olduğu öne sürülmektedir. *H. pylori*'nin feçes, dental plak ve salyadan izolasyonu, bahsedilen bu yolların varlığını desteklemektedir. Bulaş yolunun tamamı oral kavite ile ilişkili olmakla beraber sadece oral-oral ve fekal-oral değil aynı zamanda gastro-oral (kusma) yolla da olabildiği gösterilmiştir [51].

Bakterinin bulaşı dikey ya da yatay olmak üzere iki farklı yolla gerçekleşmektedir. Dikey bulaşta *H. pylori* enfeksiyonu ebeveynden çocuğa geçerken, bakteri ile çevresel ya da sosyal ilişkiler yoluyla insanların enfekte olması yatay bulaş olarak adlandırılmaktadır [52,53]. Oral-oral bulaş, *H. pylori* içeren enfekte salya yoluyla insandan insana olmaktadır. Oral-oral bulaş yolunu destekleyen bulgular, bebeklerini beslemeden önce besinleri çiğneyen Afrikalı annelerden bebeklerine bakteri bulaşı ve *H. felis* ile enfekte gnotobiotic tazi yavrularının enfekte olmayan hayvanları yalayarak onlara bakteri bulaştırdığının gösterilmesi ile elde edilmiştir [54,55]. Ayrıca, Avustralya'da yaşayan Çinli toplumun chopstick'lerini paylaşarak enfekte salyaları ile *H. pylori*'yi birbirlerine bulaştırdıkları gösterilmiştir [56]. Bakterinin en önemli bulaş yollarından biri de fekal-oral yoldur. *H. pylori*, Gambiya [57], İngiltere [58] ve Amerika Birleşik Devletleri [59] gibi dünyanın farklı yerlerinde yaşayan çocukların gayta örneklerinden kültüre edilmiştir. Ancak, bakterinin kültürü, gaytadaki zengin bakteriyel flora nedeniyle her zaman başarılı olamamıştır ve bu durum dışkıının *H. pylori* üzerine olan toksik etkilerini arttırmaktadır [42,60-62]. Fekal-oral bulaş dolaylı olarak Güney Amerika'da yapılan çalışmaların sonuçları ile doğrulanmıştır. Bu çalışmalarda *H. pylori* içeren su kaynakları ve insan dışkısı ile kontamine olmuş çiğ sebzelerin tüketilmesinin *H. pylori* enfeksiyonu için önemli risk faktörleri olduğu gösterilmiştir [63-65]. Enterik hastalıklarda sineklerin vektör olarak rolü uzun yıllardır bilinmektedir. *H. pylori* karasineklerden izole edilmiştir ve bu durum karasineklerin bakterinin fekal-oral bulaşındaki olası rolünü düşündürmektedir [66]. Nadiren de olsa, yeterince steril edilmemiş endoskopların kullanımı gibi iatrojenik yollar ile insandan insana bulaş mümkündür. Her ne kadar çalışmalarla kanıtlanamamış olsa da öpüşme ya da cinsel ilişki ile bulaş olabileceği öne sürülmüştür. *H. pylori* enfeksiyonu evcil hayvanlarda da gözlenmiş ancak bu hayvanların sahiplerinde enfeksiyon sıklığında

artış gösterilmemiştir. Bu nedenle *H. pylori* enfeksiyonu zoonotik bir enfeksiyon olarak kabul edilmemektedir [67].

Erken çocukluk döneminde kusma oldukça sık rastlanılan bir durumdur. Bu durumda bulaş mide suyu yoluyla olmaktadır. Enfekte mide suyunun solunması *H. pylori*'nin bulaşması ile sonuçlanır ve bakteri tipik ortamı olan midenin dışında da hayatta kalabilmektedir. Gastro-oral yol özellikle hijyenik olmayan çevrelerde önemli bir bulaş yoludur [53,59]. Nested PCR metoduyla *H. pylori* dil sırtında ve periodontal ceplerde saptanmıştır. Dil ile el tırnağı pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki varlığı gösterilmiştir. Bu bulgulara göre bazı araştırmacılar *H. pylori*'nin ellerle taşınabildiğini ve parmak-ağız temasının *H. pylori* bulaşının önemli bir yolu olduğunu öne sürmüşlerdir [8].

2.4. *H. pylori*'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

H. pylori spiral ya da virgül şeklinde, 0,6 x 3,5 mikron büyüklüğünde, bir ucunda 1 ile 6 adet arası değişen flajellaları ile çok hareketli ve yavaş üreyen bir gram negative basildir. Konak ve doku tropizmi nedeniyle insan ve bazı primatların mide antrumu ve kardiyasında ve gastric hücre metaplazisi varlığında mide korpusu ve oniki parmak bağırsağında kolonize olmaktadır [34,68].

H. pylori aerobic solunum yapar ancak atmosferdeki oksijen oranı basilin sağ kalması için çok fazladır. Bakteri daha az oksijen içeren ortamda üreyebilir ve bu nedenle mikroaerofilik üreyebilen bakteriler olarak adlandırılırlar. *H. pylori*, bağırsak bakterileri tarafından üretilen moleküler hidrojenin (H_2) oksidasyonu yoluyla enerji üretme yeteneği olan hidrojenaz enzimini içerir. Bakteri aynı zamanda katalaz, oksidaz ve üreaz enzimlerine de sahiptir. Bakterinin mide asidinden etkilenmeden geçişi üreaz aktivitesinin bir sonucudur. Bakteri üreyi hidrolize ederken amonyak ve karbondioksit oluşturur. Amonyak, su ile entegre olarak amonyumu oluşturur, H^+ iyonları içererek ortamı alkalize eder ve bakteriyi gastric asidin zararlı etkilerinden korur. Bu reaksiyonda aynı zamanda OH^- iyonları da oluşmaktadır. *H. pylori*'nin spiral şekli ve flajellaları bakterinin mukus tabakasını geçmesine yardım eder. Bakteri, mide yüzey epiteline adezinlerle yapışır, mukusu proteaz ile parçalar, geri difüzyonu ve H^+ iyonlarının zararlı etkilerini fosfolipidden zengin yüzey epitel tabakasına lipazla hasar vererek potansiyalize eder. OH^- iyonunun gastrik mukozaya toksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. *H. pylori*'nin gastrik

mukozaya yapıştıktan sonra salgıladığı toksik proteinlerden biri de gastrik epitelyal hücre büyümesini inhibe eden faktördür [69-73]. Bakteri, mukus ile epitelyal hücreler arasına kolonize olur ve gastrik mukozaya invaze olmadan inflamasyona sebep olur. *H. pylori*, platelet aktive edici faktör salgılar, yüzey proteinleri ile nötrofil ve monositlerin mukozaya toplanmasını sağlar, monositleri aktive eder ve inflamasyonu başlatır. *H. pylori* her ne kadar invaziv bir bakteri olarak kabul edilmese de yakın zamanda epitel hücrelerinin içinde de kolonizasyonu gösterilmiştir. Bu durumun hastalığın patogenezinde oynadığı rol açık değildir ancak tedaviye direncin sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir [72]. *H. pylori*'nin genel özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir [74].

Çizelge 2.2. *H. pylori* 'nin özellikleri

Özellik	Etki
Spiral Şekil	Mukus içinde hareketi sağlar.
Flajella	Hareketin etkin oluşunu sağlar.
Lipopolisakkaritler; GM3 ganglizoid ve Lewis B antijenlerine bağlanmayı sağlar	Gastrik mukus salgılayan hücrelere seçici koloni oluşturur.
Üreaz	Gastrik ortamda yaşam sürdürme
Katalaz	Gastrik ortamda ve muhtemelen de fagositik vakuollerde (H ₂ O ₂ 'den korunarak) yaşama
Fosfolipaz A ve B	Mukusun epitel hücre membranının sindirimi, mukusun ıslaklığının artışı.
Proteaz	Mukusun epitel hücre membranının sindirimi, mukusun eriyebilirliğinin artışı
Vac A (Vakuol yapıcı sitotoksin)	Epitel hücrelerin hasarlanması.
Düşük molekül ağırlıklı proteinler (Porinler)	Nötrofil ve mononükleer hücreleri kendine çekerek reaktif oksijen bileşikleri ve interlökinlerin salgılanması.
cagA (Sitotoksin ilişkili gen A)	Sitotoksin oluşumu ve muhtemelen peptik ülser oluşumu
Isı Şok Proteinleri (Hsp A ve B)	Otoimmünitede rol oynar.

2.5. *H. pylori*'nin Kültür, Üreme ve Boyanma Özellikleri

Mikroaerofilik bir mikroorganizma olan *H. pylori*, % 10 CO₂, % 5 O₂, % 85 N₂ ve nemli atmosferik koşullara sahip ortamlarda üreyebilmektedir. Optimal üreme sıcaklığı 37°C'dir ve nötrofilik bir bakteridir. pH=6,8-7,6 arasında üreyebilen *H. pylori*, ortam pH= 4,1'in altına düştüğünde üreyememekte, ancak çevre şartları ve ortamdaki metabolitlere bağlı olarak pH=2,5-9 aralığında canlılığını koruyabilmektedir [29].

H. pylori üreyebilmek için zengin besiyerlerine ihtiyaç duymaktadır. Kan, hemin, mısır unu, yumurta sarısı gibi maddeler besiyerlerini zenginleştirmek için kullanılmaktadır. BHI agar, Brucella agar, Columbia agar ve Skirrow besiyerleri *H. pylori*'nin üreyebilmesi için uygun besiyerleri olarak seçilebilmektedir. Bu besiyerlerine % 5 ile % 10 arasında at ya da

koyun kanı hatta bazı çalışmalara göre insan kanı ilave edilmektedir. Diğer mikroorganizmaların üremesini baskılamak amacıyla besiyerlerine Gram pozitif kontaminantlar için Teikoplanin veya Vankomisin, Gram negatifler için Polimiksin B, Trimetoprim, Nalidiksik asit, Kolistin veya Sefsulodin, funguslar için ise Amfoterisin B ya da Nistatin gibi antibiyotikler ilave edilmektedir. *H. pylori* seçici besiyerlerinde bile oldukça yavaş üreyen, adi besiyerlerinde ise üretilmeyen bir bakteridir. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde 37°C'de 3-7 gün arasında değişen inkübasyon süresi sonucunda 1-2 mm büyüklüğünde yuvarlak, şeffaf su damlası şeklinde koloniler oluşturmaktadır [29,30]. *H. pylori* kültürü yapılacağı zaman, biyopsi materyali olabildiğince birden fazla bölgeden ve özellikle lezyon kenarlarından alınmalıdır. Hasta başında ekim yapılmalı, eğer mümkün değil ise biyopsi örneği içerisine % 3 gliserin ve antibiyotik ilaveli Brucella broth, Nutrient broth, Beyin Kalp İnfüzyon broth gibi sıvı besiyerlerinde, soğuk ortamda taşınarak en geç 2 saat içerisinde uygun besiyerlerine ekilmelidir. Uygun koşullarda 3-7 gün boyunca kültür inkübe edilmeli ve inkübasyon süresi sonucunda oluşan kolonilerden hazırlanan preparatlardan Gram boyama, üreaz, katalaz ve oksidaz testleri yapılarak bakterinin identifikasyonu yapılmalıdır. Dokudan ya da besiyerindeki kolonilerden hazırlanan preparatlar Gram boyası haricinde, karşıt boya olarak karbol fuksinin kullanıldığı Giemsa boyası ile de boyanabilmektedir. Bunun yanında, Hematoksilen-Eozin, Warthin-Starry gümüş boyası, Modifiye Giemsa, Akridin oranj gibi histolojik boyalar da *H. pylori* preparatlarını boyamak için kullanılabilir [75,76].

H. pylori, mukus ve dokudan hazırlanan preparatlarda, daha karakteristik olarak balık sürüleri halinde daha uzun ve kıvrımlı görünümdeyken, besiyerinde üretilmiş kolonilerden hazırlanan preparatlarda ise kıvrımlı görünüm daha nadir olup, çoğunlukla ince çomaklar şeklinde görülmektedir. Dışkı örneklerinden hazırlanan preparatlarda ve antibiyotik kullanımı sonrası ya da oksijene maruz kalmış gastrik doku örneklerinden hazırlanan preparatlarda, *H. pylori* düzensiz çubuklar veya yuvarlak, kokoid şekillerde görülmektedir. *In vitro* koşullarda *H. pylori* kültürü uzun süreli pasajlardan sonra canlılığını kaybedebilmektedir. Üretilen koloniler % 10 Fetal Bovine Serum (FBS), % 20 gliserol içeren Beyin Kalp İnfüzyon Broth'da - 80°C de aylarca saklanabilmektedir [76].

2.6. *H. pylori*'nin Biyokimyasal Özellikleri

H. pylori'nin laboratuvar koşullarında üretilmesinin ardından yapılan ilk çalışmalar bakterinin taksonomisi ve biyolojik özelliklerine yönelik olarak yoğunlaşmıştır. Kültürde üretilen koloniler ile yapılan tanı çalışmaları ise bakterinin biyokimyasal özelliklerini ortaya koymuştur (Çizelge 2.3) [74].

H. pylori için yaşamsal öneme sahip POR ve OOR enzimleri, bakteri atmosferik oksijene maruz kaldığında inhibe olmaktadır. Bu nedenle *H. pylori*, zorunlu mikroaerofilik bir bakteridir ve % 5-10 CO₂ ve % 5-20 O₂ bulunan ortamlarda üreyebilmektedir. Oksidatif hasarı önleyebilmek için süperoksit dismutaz, peroksidaz, sitokrom oksidaz ve katalaz enzimlerini sentezlemektedir. Bunun yanında, kolonizasyonda önemli olduğu bilinen yüksek miktarda üreaz enzimine sahiptir [23]. *H. pylori*, karbonhidratları fermente ya da okside edemez bu nedenle gerekli enerjiyi solunum ve aminoasitlerin metabolize edilmesi yoluyla sağlar [70].

Çizelge 2.3. *H. pylori*'nin biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal Özellik	Sonuç
Katalaz	+
Oksidaz	+
Üreaz	+
Alkalen Fosfataz	+
Nitrat İndirgeme	-
İndol	-
Glutamil Transferaz	+
Hippurat Hidrolizi	-
Sefalotin	Duyarlı
Nalidiksik Asit	Dirençli

2.7. *H. pylori*'nin Moleküler Özellikleri

İlk kez 1997 yılında Tomb ve arkadaşları tarafından *H. pylori*'nin tam genom dizi analizi açıklanmıştır. Kodlanan genlerin 300'den fazlası membran yapısı ile ilişkilidir. Ayrıca kodlanan genler arasında; glukoz metabolizması ile ilişkili genler, 16S, 23S ve 5S ribozomal RNA genleri, DNA replikasyonunda görev alan *gyrA*, *recA* ve *ftsH* genleri gibi homolog DNA rekombinasyonundan sorumlu genler, oksidaz, sitokrom oksidaz ve katalaz gibi oksidasyon redüksiyon genleri gibi hücre canlılığı için önemli olanlar belirlenmiştir. Birçok gen bölgesinin *H. pylori*'nin patogenezi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunlar arasında vakuol yapıcı sitotoksin geni (*vacA*), sitotoksin ilişkili gen A (*cagA*), dış membran

proteinleri (OipA) ve lipopolisakkarit moleküllerini kodlayan genler, flagellin genleri (flaA ve flaB), adhesin geni (hpaA), fonksiyonu tam olarak bilinmeyen ureC ve ureD genleri, üreaz gen kümesi yapısal alt birimlerini kodlayan ureA ve ureB genleri ile üreaz aktivitesi için gerekli olan ureE, ureF, ureG, ureH ve ureI genleri bulunmaktadır [74,77].

H. pylori genomunda G+C oranı yaklaşık % 39'dur. G+C oranının düşük olması genetik plastisite ve sık görülen rekombinasyonlara sebep olmaktadır. Ayrıca *H. pylori* genomunda bakterinin konağa ve mide koşullarına uyumunu kolaylaştırmak amacıyla % 2-8 oranında sinonim ve non-sinonim mutasyonlar görülmektedir. *H. pylori* kökenlerinin % 40'ında virulansla ilişkilendirilebilecek herhangi bir gen içermeyen ve büyüklükleri 1,5-23,3 kb arasında değişen plazmidler bulunmaktadır [29].

2.8. *H. pylori*'nin Hücre Duvar Yapısı ve Antijenik Özellikleri

H. pylori tipik Gram negatif bakteri hücre duvar yapısına sahiptir. Buna göre hücre duvarı, ince bir peptidoglikan tabaka ve hücreye antijenik özellik kazandıran lipopolisakkarit (LPS) yapıdan oluşan yarı geçirgen bir dış membran ve iç membrandan oluşmaktadır. *Campylobacter* cinsi hücre duvar yapısında görülen metillenmiş menakuinonlar *H. pylori*'de bulunmamaktadır. Ayrıca hücre duvarı *Campylobacter* cinsinden farklı olarak ayırıcı özellikteki protein ve yağ asitlerini içermektedir. Hücre duvarının yapısında, yüksek oranda tetradekanoik asit ve 19 karbonsiklopropen ile daha düşük oranlarda heksadekanoik asit, oktadekanoik asit ve linoleic asit gibi yağ asitleri yer almaktadır. Ayrıca hücre duvarında, fosfatidil etanolamin, lizofosfatidiletanolamin, fosfatidil kolin gibi fosfolipitler ile fosfatidik asit ve fosfatidilserin gibi asidik fosfolipitler de yer almaktadır [30,78]. *H. pylori*'de LPS yapısı diğer Gram negatif bakterilerde olduğundan bazı farklılıklar gösterir. *H. pylori* LPS'inde, diğer Gram negatif bakterilerde polisakkarit yapıda 6 olan zincir sayısının 4'e düşmesi, buna karşılık zincirdeki karbon sayısında artış olması, polisakkaritlerin antijenik özelliğini zayıflatmaktadır. Ayrıca, *H. pylori* LPS yan zincirindeki Lewis x ve Lewis y karbonhidrat antijenleri, insan eritrosit ve gastrik mukoza hücrelerinin yüzeyinde yer alan Lewis a, Lewis b ve O grubu insan eritrositlerindeki H1 antijenleri ile homoloji göstermektedir. *H. pylori*'nin bu özelliklere sahip olması, bakterinin immün sistemden kaçışına, kronik kolonizasyonuna, gastrik ortama kolay adaptasyonuna ve kronik enfeksiyonlara bağlı otoimmün patolojilere neden olmaktadır. *H. pylori* kolonizasyonu sırasında Lewis antijenlerinde meydana gelen mutasyonlar oldukça

önemlidir. Konağın immun yanıtından kaçabilmek için enfeksiyon esnasında *H. pylori* kendi antijenik yapısını konağın Lewis antijenine uyumlu hale getirmektedir [79].

H. pylori hücre duvar yapısında, mukozal immün yanıtı uyararak gastroduodenal patolojide önemli olan, bunun yanında gastrik mukoza adezyonu ve gastrik ortama uyumu sağlayan çok sayıda protein yer almaktadır. Bu proteinler, hücre duvarının dış membranına yerleşmiş halde bulunmaktadır. *H. pylori* suşlarında karakterize edilmiş 5 porin proteini Hop A, B, C, D ve E olarak isimlendirilmiştir. BabA (HopS), Hop protein ailesinin önemli bir üyesi olup insan eritrosit ve gastrik mukoza hücrelerinin yüzeyinde yer alan Lewis b'ye bağlanmada bir adezin olarak görev yapan önemli bir virülans faktörüdür [29].

Büyük molekül ağırlığına sahip şeparon proteinler olarak da bilinen ısı şok proteinleri (Hsp-Heat Shock Protein) *H. pylori* yüzeyinde eksprese edilmektedir. İnsanlardaki pekçok hücre Hsp'leri ile benzer olan bu proteinler konak immün sistemi tarafından algılanamamaktadır. Ancak, kronik enfeksiyonlar sırasında konağın immün sistemi tarafından algılanabilmektedirler ve bu durum patolojik otoimmün cevabın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, gastrik karsinomalara kadar ilerleyen geri dönüşümü olmayan doku hasarı gözlenir [80,81].

2.9. *H. pylori*'de Hareket

H. pylori, spiral veya virgül şeklinde olması, düzgün hücre yüzeyine sahip olması ve sayıları 1–6 arasında değişen polar flajellalara sahip olması nedeniyle mide içerisinde yaşayabilmekte ve hastalık oluşturabilmek için mukus içerisinde hızlı bir şekilde hareket edebilmektedir. Ortamın viskozitesi birçok flajellalı bakterinin hızını etkilemektedir. Viskozitenin 2–3 centipois'e artması durumunda hızın süratle düştüğü görülmektedir. Bazı hızlı hareket eden bakteriler hareketliliklerini 20 centripois'e kadar sürdürebilirken, *H. pylori* 200 centipois de hareketliliğini koruyabilmektedir ve bu yoğunlukta pH>4 iken hızı 60-70 µm/saniye dolaylarındadır. *H. pylori* flajellası, sitoplazmik membrandaki FliF, FliM ve FliS protein polimerlerinden oluşan bazal cisimcikten çıkar, dış membrana gömülü halde bulunan diski ve FlaE protein polimerinden oluşan hücre duvarına bağlı dirseği geçerek hücre dışına salınır. Flajella; 56 kDa büyüklüğüne sahip bir major flagellin, FlaA ve 57 kDa büyüklüğüne sahip bir minor flagellin, FlaB, protein iplikçiklerinden oluşmuş,

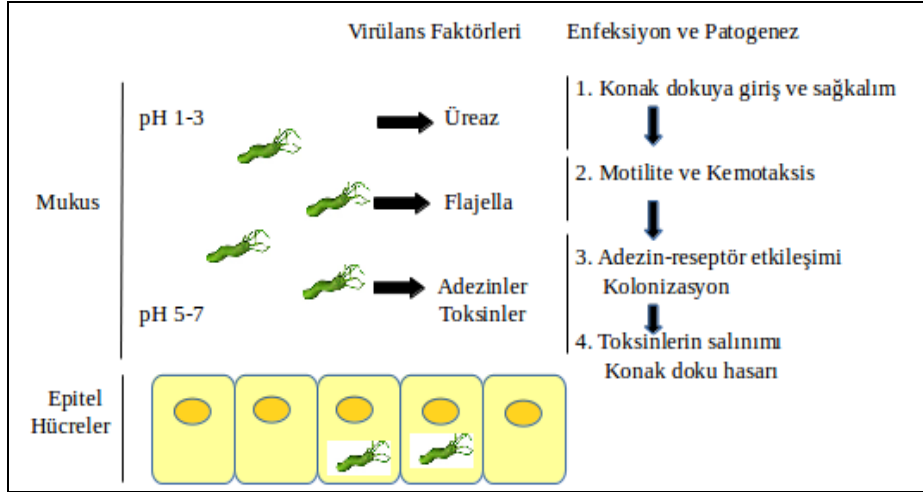
uçları topaç görünümünde olan sarmal yapıda bir oluşumdur ve uzunluğu yaklaşık olarak 30 µm, kalınlığı ise 2,5 nm dir [82,83].

2.10. *H. pylori*'nin Patogenezi

H. pylori patogenezi ve hastalığın sonuçları, bakteriyel virülans faktörleri, konaksal ve çevresel faktörlerin kompleks bir etkileşimi ile ilişkilidir. *H. pylori* konağın midesine girdikten sonra bakterinin başarılı kolonizasyonu, persistan enfeksiyonu ve hastalık patogenezi için 4 kritik basamak bulunmaktadır:

- 1) Asidik midede sağ kalım
- 2) Flajella aracılığıyla epitel hücrelerine hareket
- 3) Adezin/reseptör etkileşimi ile konak hücrelere tutunma
- 4) Toksin salınımı ile doku hasarı oluşturma.

Konağın midesine girdikten sonra *H. pylori*, enfeksiyonun başlangıcında midenin asidik durumunu nötralize edebilmek için üreaz aktivitesini kullanmaktadır. Daha sonra *H. pylori*'nin konak mide epitel hücrelerine doğru ilerleyebilmesi için flajella aracılı motilite gerekmektedir. Bu aşamayı bakteriyel adezinler ile konak hücre reseptörleri arasındaki özgül etkileşimler takip etmektedir ve sonuçta başarılı kolonizasyon ve persistan enfeksiyon gerçekleşmektedir. Son olarak *H. pylori* salgıladığı cytotoxin associated gene A (CagA) ve vacuolating cytotoxin A (VacA) gibi çok sayıda efektör protein/toksin salgılayarak konak doku hasarı oluşturmaktadır (Şekil 2.2). Buna ilaveten, *H. pylori* ile konak arasında temel arayüz olan gastrik epitel tabakası, doğal bağışıklığı başlatarak ve nötrofilleri aktive ederek gastrit ve ülser gibi klinik hastalıkların oluşmasına yol açan kemokinleri salgılamaktadır [84].



Şekil 2.2. *H. pylori* enfeksiyonu ve patogenezinin şematik diyagramı

2.11. *H. pylori* Enfeksiyonunda Doğal İmmün Yanıt

Doğumsal immün sistem invaziv patojenlere karşı defans hattının ilk sırasındadır. Bu sistem proinflatuar yolları aktive eden çok sayıda reseptörden oluşmaktadır. Yüzeysel ve endozomal reseptörler, lipopolisakkaridler, bakteri hücre zarı içerikleri, nükleik asitler ve flagellin gibi farklı patojen parçalarını tanıyan Toll-like reseptörler (TLR'ler) içermektedir [85]. Yüzeysel ve endozomal reseptörlere ilaveten, sitoplazmada patojenik partiküllerin varlığını araştıran çok sayıda hücre içi reseptör mevcuttur. Bunlar, peptidoglikanları tanıyan ve hasarlı konak hücrelerinden salınan parçaları tespit eden Nod-like reseptörleri (NLR'ler) içermektedir. Diğer sitozolik reseptörler nükleik asitleri tespit eden RIG-I benzeri (RLR) ve AIM2-benzeri (ALR) reseptörlerdir. Patojenik elementlerin TLR'ler ve NLR'ler ile tanınması NF- κ B ve MAPK yollarının aktivasyonu ile sonuçlanarak inflammatuar sitokinlerin sentezi ve sekresyonunu indükler. NLR ve AIM2 reseptörlerinin angajmanı inflazomların bir araya gelmesini ve ASC/Caspaz-1 aktivasyonunu tetikleyerek aktif IL-1 β ve IL-18 sekresyonuna yol açar [86-89]. İnflamatuar yanıt konak için her zaman faydalı değildir. *H. pylori* enfeksiyonu söz konusu olduğunda, ortaya çıkan inflamasyon ciddi gastrik immünopatolojiye ve kansere yol açabilir [90]. *H. pylori* güçlü bir immün yanıtı başlatır. TLR2, *H. pylori* enfeksiyonu ve sonucunda gelişen inflamasyonun tanınmasında temel doğumsal reseptördür. TLR2'nin sağlam *H. pylori* bakterisi için dominant reseptör olduğu gösterilmiştir. TLR2 aynı zamanda *H. pylori* Hsp60 tarafından aktive edilmektedir. TLR4 (LPS reseptörü) ve TLR5 (flagellin reseptörü)'de *H. pylori*'ye doğumsal immün yanıtta rol oynamaktadır [89,91,92]. Ayrıca, *H. pylori*'nin cagA sekresyon sistemi, peptidoglikanları konak hücrelerine ileterek Nod1 gibi hücre içi

reseptörleri aktive eder [89]. Bu doğumsal reseptörlerin aktivasyonu NF- κ B, kaspaz ve interferon yollarının aktivasyonuna yol açar ve IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, MCP-1 ve IFN β gibi proinflatuar sitokinlerin üretimi ile sonuçlanır [88,89]. Bu sitokinler, nötrofiller ve lenfositler gibi akut inflamatuvar mediatörleri etkileyerek adaptif immün yanıtın aktivasyonuna yol açar. *H. pylori* ile kronik enfeksiyon konak tarafından sürekli bir immün yanıtı yol açarak mide kanseri oluşumuna katkıda bulunur [86].

H. pylori tarafından başlatılan immün yanıtın anlaşılması, gastrit gelişimi ve *H. pylori* ile ilişkili hastalık durumlarının anlaşılmasında ipuçları verebilir. Enfeksiyona yanıt olarak oluşan proinflatuar sitokinler, erken doğumsal immün yanıtın analiz edilmesinde mükemmel bir yoldur. MCP-1, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin oluşumunu ölçecek çok sayıda ticari kit mevcuttur.

Proinflatuar sitokinlerin üretimine ilaveten, *H. pylori* enfeksiyonu aynı zamanda IFN β ekspresyonuna da yol açar [89]. İnsan hücrelerinde IFN β üretiminin ölçümü oldukça zordur. Ticari olarak mevcut bulunan IFN β ELISA kitleri çok pahalıdır ve uygulaması zaman almaktadır. İnsan embriyonik böbrek (HEK) hücrelerinde Luciferaz raportör sistemleri, IFN β ekspresyonunun ucuz yoldan kantifikasyonu ve bahsi geçen proteinlerin ektojik ekspresyonunun uygunluğu için alternatif bir metod oluşturmaktadır. Raportör metodu, *H. pylori* tarafından aktive edilen NF- κ B, JNK ve AP-1 gibi diğer yolların aktivasyonunu ölçecek şekilde modifiye edilebilmektedir. HEK hücreleri, *H. pylori* enfeksiyonu tarafından kuvvetle uyarılan bir sitokin olan IL-8'in üreticileridir [91]. Farklı genotiplerdeki farelerden izole edilen MEF hücreleri aynı zamanda *H. pylori* 'nin *in vitro* enfeksiyonlarını çalışmak için de kullanılabilir [93]. TLR'ler ve Nod1 aktivasyonu ile tetiklenen erken inflamasyon, adaptif immün yanıtı çalıştırarak *H. pylori* 'ye karşı antikorların oluşumu ile sonuçlanır.

2.12. *H. pylori* İle İlişkili Klinik Tablolar

H. pylori, ciddi gastroduodenal hastalıklara neden olmaktadır. Enfeksiyon sıklıkla asemptomatik seyrederken, enfekte hastaların % 15-20'sinde peptik ülser, % 2-12'sinde komplike ülser, % 1-3'ünde mide kanseri ve % 0,1'inde ise primer gastrik lenfoma görülmektedir. Farklı gastroduodenal hastalıkların görülmesinde birçok faktör birlikte rol almaktadır. *H. pylori*'ye ait antijenik özelliğe sahip, enzim ve yapısal elemanların

oluşturduğu kronik inflamasyon midedeki doku hasarından sorumludur. Enfeksiyon sırasında mide pH=4-4,5'a kadar yükselirken, midede metabolitlerin artışına neden olmaktadır. Bu metabolitlerden nitrat ve nitritler, gıdalar ve ilaçlarla alınan amidler ve aminler ile birleşerek mukozal hücrelerde hasara ve neoplastik transformasyona neden olan karsinogen nitrozo aminler ve nitrik oksid radikalleri (NOS) gibi N-nitrozo bileşiklerini meydana getirmektedir. Ayrıca, *H. pylori* ile enfekte hastalarda, karsinogenezin tetiklenmesine neden olan mukozal askorbik asit oranının düştüğü ve lipid peroksidasyonunun arttığı gözlenmiştir [78,94,95]. *H. pylori* enfeksiyonu sonrasında kronik gastrit gelişmektedir. Tüm hasta bireylerde çoğunlukla asemptomatik gastrik inflamasyon görülmektedir. Ancak, gastrik kolonizasyonuna bağlı olarak asemptomatik taşıyıcılıktan non-ülser dispepsiye, peptik ülserden MALT lenfoma ve gastrik karsinomaya, kronik gastritten aktif akut atrofik gastrite kadar değişen gastroduodenal patolojiler görülebilmektedir [5,73].

2.12.1. Akut gastrit

Akut dönem genellikle asemptomatiktir ve bu dönemde konakta yerleşen bakteri yıllarca midede kalır ve kolonizasyona karşı immün yanıt oluşur [29].

2.12.2. Kronik gastrit

H. pylori ile enfekte bireylerin neredeyse tamamında en sık gözlenen klinik tablo kronik gastrittir. *H. pylori* konak vücuduna girdikten sonra midede mukus tabakasını geçerek, midenin lüminal yüzeyinde yerleşir ve bu şekilde inflamatuvar yanıt başlar. *H. pylori* 'ye konağın yanıtı T ve B lenfositlerden oluşur, mide epitel ve l. propriada bakteriyi fagosite eden polimorfonükleer infiltrasyon gözlenir. Mukozal etkileşim sonucunda, proinflamatuvar sitokinler (IL-8) salgınır. Mide epitel hücreleri, class II molekülleri eksprese ederek daha fazla sitokin salgınmasına ve inflamasyona neden olur. *H. pylori* gastritli hastalarda özellikle TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10 gibi sitokinler yüksek seviyelerde gözlenmektedir. Konağın nötrofilleri tarafından salgınan lökotrien B gastrik epitel için oldukça sitotoksiktir ve inflamatuvar değişimlere neden olmaktadır. *H. pylori* korpusa yerleştiği takdirde görülen sürekli iltihap, parietal hücrelerin inhibisyonuna ve gastrik asit sekresyonunun azalmasına neden olur.

H. pylori sıklıkla asit oranının daha düşük olduğu antrum bölgesine yerleşmektedir. Bakterinin, antrum ve korpus bölgelerindeki epitel hücrelere tutunması nötrofillerin lamina propriaya yoğun şekilde göç etmesine neden olur ve bunun sonucunda akut nötrofilik gastrit gelişir. Akut gastrit, konağın immün yanıtına bağlı olarak birkaç hafta ile birkaç ay sürebilmektedir veya immün yanıtın yetersiz olduğu durumlarda aktif kronik gastrite dönüşebilmektedir. *H. pylori* enfeksiyonu tedavi edildiği takdirde, dokudan nötrofil infiltrasyonu süratle geriler, kronik inflamatuvar hücrelerde yavaş bir rezolüsyon görülür ve gastrin sekresyonu normale döner [96].

2.12.3. Gastrik ülser

Peptik duodenal ve gastrik ülserlerde asit ve pepsin, mide ve duodenumda koruyucu mekanizmaları geçerek mukozada derin hasarlar oluştururlar. Duodenum ve gastrik ülserler arasında benzer yönler olduğu gibi farklılıklar da mevcuttur. Gastrik ülserler duodenum ülserlerine oranla daha az sıklıkta görülmektedir. Duodenum ülserleri daha genç yaşlarda görülür ve gastrik ülserin aksine semptomatiktir. Duodenal ülser görülen hastalarda, gastrik ülserli hastalara oranla *H. pylori* kolonizasyonu daha yüksek oranlarda görülmektedir. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) ya da aspirin kullanımı gastrik ülser oluşumunun en önemli nedeni olarak bilinmektedir. İlaç kullanımı dışında en sık karşılaşılan etken ise *H. pylori* olarak rapor edilmiştir [97].

Patolojik olarak duodenum ülserlerinde hiperasidite ön planda iken gastrik ülserlerde koruyucu mukozal mekanizmaların yetersizliği ön plandadır. Asit salınımı duodenum ülserlerine oranla oldukça azalmıştır. Gastrik ülserlerin duodenum ülserlerine oranla malign orijinli olma riski daha yüksektir, duodenum ülserlerinde malign natürde ülser nadir olarak görülmektedir. Yapılan araştırmalardan elde edilen verilere göre, gastrik ve duodenal ülserlerin benzerliklerinin bildirilmiş olmasına rağmen aynı olduğu kanıtlanamamıştır. Sonuç olarak, gastrik ve duodenum ülserlerinin etiyojisi, epidemiyoloji ve patogeneziindeki farklılıklar nedeniyle tedavi ve takipte farklı yaklaşımlar gerekli görülmüştür [98].

2.12.4. Peptik ülser

Peptik ülser, önceleri asit ile ilişkilendirilen (no asit-no ülser) bir hastalık iken, artık günümüzde enfeksiyon ile ilişkili (no *H. pylori* -no ülser) bir hastalık olarak kabul edilmektedir. 1994 yılında Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü, *H. pylori* 'nin peptik ülser hastalığının en önemli etkeni olduğunu ve enfekte hastalarda bu mikroorganizmanın eradikasyonunun yapılmasının gerekliliği önemle vurgulamıştır [99]. Yapılan 24 çalışmanın değerlendirildiği metaanaliz sonuçlarına göre, duodenum ülserli vakaların % 94'ünde ve gastrik ülserli vakaların % 84'ünde *H. pylori* gastriti saptanmıştır. Bu durum, *H. pylori*'nin peptik ülser ile ilişkisini destekleyen bir veri olarak gösterilebilir. Bunun yanında, bakterinin eradikasyonundan sonra peptik ülserin gerilemesi ve rekürrensini oldukça azalması bu ilişkiyi destekleyen en kuvvetli kanıt olarak gösterilmektedir. Yapılan bir metaanalizde 686 duodenum ülserli hastanın sonuçları değerlendirilmiş, birinci yıl rekürrens oranları *H. pylori* (+) olanlarda % 69-72, *H. pylori* (-) olanlarda % 4-9 olarak saptanmıştır. 204 gastrik ülserli hastada ise bu oranların % 49-69 ile % 1-10 arasında olduğu belirlenmiştir [100-102].

Bakterinin keşfedilmesinden çok uzun yıllar önce, ülserli hastalarda gastritin varlığı gösterilmiştir. Ülser tipleri ile gastrit şiddeti ve yerleşimi arasındaki ilişkiler araştırıldığında, duodenum ülserinde gastrit sıklıkla antrumda, hafif veya orta şiddette saptanmıştır. Bunun yanında gastrik ülserli ve *H. pylori* gastritli vakalarla kıyaslandığında korpustaki gastrit, çok daha hafif görülmektedir. Duodenum ülserli hastalarda, duodenit ve gastrik metaplazi (intestinal epitelin gastrik tipte yüzey mukus hücreleri ile yer değiştirmesi) yaygın olarak görülmektedir. Ülser çevresinden alınan biyopsi örneklerinin değerlendirildiği çalışmalarda biyopsi sayısının artması ile artan oranlarda gastrik metaplazi ve beraberinde *H. pylori* varlığı saptanmıştır [103-106]. Bu bilgiler doğrultusunda *H. pylori*'nin duodenum ülseri patogeneziindeki rolü şu şekilde açıklanmaktadır. Antrumda görülen belirgin *H. pylori* gastriti postprandial gastrin ve buna bağlı olarak asid sekresyonunu arttırmaktadır. Bu durum duodenum asidifikasyonuna sebep olmakta ve burada gastrik metaplazi alanları oluşmaktadır. *H. pylori*'nin bu bölgelerdeki kolonizasyonu duodenit gelişimine neden olmaktadır. *H. pylori* enfeksiyonu, koruyucu etkisi olan duodenal bikarbonat salgısını azaltmaktadır. Bir taraftan mukozanın inflamasyonu ile direncinin azalması, diğer taraftan asit sekresyonunun artması ve

duodenal bikarbonat salgısının azalması sonucunda ülser oluşumu görülmektedir [100,106].

2.12.5. Gastrik karsinoma

Gastrik karsinogenezis kompleks, çok basamaklı ve etyolojisinde pek çok faktörün rol aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır. *H. pylori*, hastalığın etkenleri arasında dikkat çekici bir öneme sahiptir (Şekil 2.3) [99]. Gastrik patolojiler ile *H. pylori* arasındaki ilişki ortaya koyulduktan sonra *H. pylori*'nin gastrik kanserler ile ilişkisi olup olmadığı araştırılmaya başlanmıştır. Elde edilen verilere göre, gastrik kanserli hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun varlığını ya da geçirildiğini özgül ve duyarlı olarak gösteren *H. pylori* IgG antikollarının kontrollere oranla anlamlı derecede artmış olduğu saptanmıştır [107-109]. Retrospektif ve prospektif çalışmalar sonucunda *H. pylori* ile gastrik karsinogenez arasındaki ilişki ortaya konmuş bunun sonucunda 1994 yılında WHO (World Health Organisation) çalışma grubu olan “International Agency for research on Cancer” tarafından, gastrik kanser hastalığı için *H. pylori*, birinci derecede risk faktörü olarak rapor edilmiştir [110].

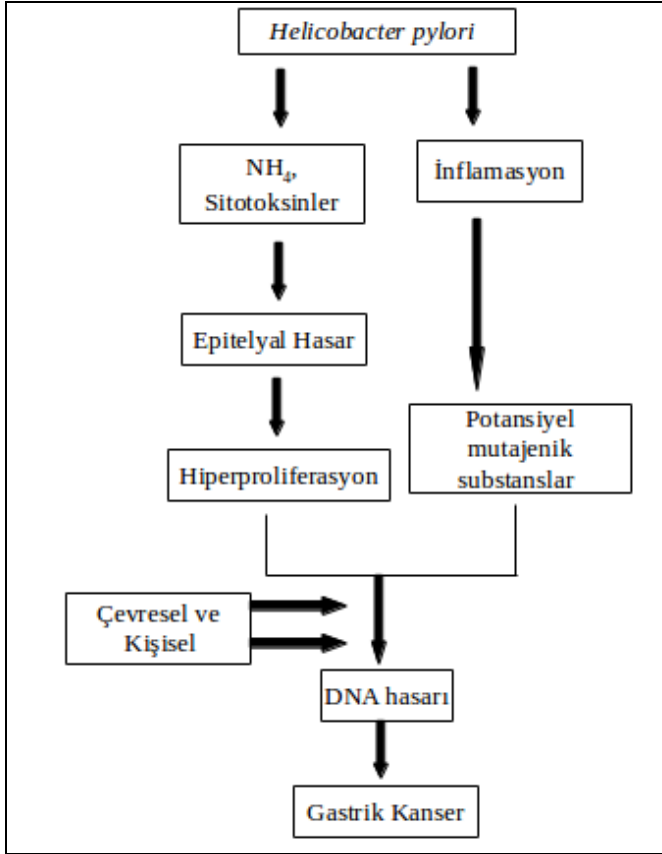
Gastrik karsinoma ile *H. pylori* ilişkisi, intestinal tip gastrik karsinoma ile kurulmuştur. İntestinal tip gastrik karsinomada, intestinal metaplazi ve atrofik gastrit gibi prekanseröz lezyonlar mevcuttur. Correa'nın hipotezine göre, *H. pylori* enfeksiyonunda sırayla kronik gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi görülmekte ve sonuçta gastrik karsinoma gelişmektedir [111]. Gastrik karsinoma prevalansı, *H. pylori* prevalansı ile doğru orantılı olarak yüksek değildir. *H. pylori* pozitif kişilerde gastrik kanser görülme oranı Japonya da % 0,4, Almanya da % 0,1, ABD'de ise çok düşük seviyelerdedir [110]. Ayrıca, *H. pylori* duodenum ülserlerinde de önemli bir etken olduğu halde, duodenum ülserlerinde gastrik karsinoma insidansı da düşük seviyelerde görülmektedir [112]. Bu veriler, *H. pylori*'nin gastrik karsinogenezde tek başına değil, etkili olan birçok faktörden bir tanesi olduğu düşüncesini gündeme getirmiştir. Buna göre; beslenme, genetik yatkınlık, immünolojik durum, *H. pylori*'nin farklı suşları, bakterinin konağa yerleşme zamanı gibi faktörler *H. pylori*'nin farklı coğrafi bölgelerdeki kişilerde farklı etkiler yarattığı görüşünü düşündürmektedir. Malignite, genetik farklılıkların birikimi ve karsinojenik gidişte farklı fenotipik mutasyonların birikimi sonucunda meydana gelmektedir.

H. pylori'nin tanımlanan en önemli etkilerinden birisi de gastrik epiteliyal hücre döngüsünü değiştirmesidir. Bu durumun da gastrik karsinoma riskini arttırdığı kabul edilmektedir [113]. *H. pylori*'nin hücre döngüsüne etkisi birkaç şekilde açıklanmaktadır;

1. *H. pylori*'nin sebep olduğu kronik inflamasyon sonucunda ortamda biriken serbest oksijen radikallerinin yarattığı DNA hasarı ve sonuçta gerçekleşen hücre ölümü.
2. *H. pylori*'nin hücrelerle direkt temas halinde olması sonucunda gerçekleşen hücre ölümü.
3. *H. pylori*'nin toksinlerinin neden olduğu doku hasarı sonucunda gerçekleşen hücre ölümü.

Üzerinde sıklıkla durulan diğer bir durum ise *H. pylori*'nin sebep olduğu kronik inflamasyon sonucu ortamda biriken serbest oksijen radikallerinin DNA hasarına neden olarak, karsinogenez oluşumunu tetiklemesidir. Serbest oksijen radikallerinin karsinogenezi tetiklediği yapılan klinik ve deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur [113,114]. Gastrik mukozada *H. pylori*'nin serbest oksijen radikallerinin sentezini indüklediği ve enfeksiyonunun şiddeti ile serbest oksijen radikallerinin düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunduğu rapor edilmiştir [115]. Serbest oksijen radikallerinin birikimi sonucunda oluşan DNA hasarının göstergesi olan 9-hidroksideguanosin seviyesi, *H. pylori* (+) bireylerde, *H. pylori* (-) bireylere kıyasla belirgin oranda yüksek bulunmuştur [116].

Sonuç olarak gastrik karsinogenez oluşumunda, *H. pylori*'nin neden olduğu gastrik epitelyal hiperproliferasyon ve oluşturduğu inflamasyon sonucunda ortamda biriken serbest oksijen radikallerinin birlikteliği en önemli faktör olarak gösterilmektedir [117-120].



Şekil 2.3. Gastrik karsinogenez ve *H. pylori* arasındaki ilişki

2.12.6. Gastrik lenfoma

H. pylori enfeksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülen diğer bir tümöral oluşum, gastrik lenfoma ya da mukoza ile ilişkili lenfoid doku tümörü, MALT lenfomasıdır. *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik lenfoma için ciddi risk faktörü olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir [121]. Normal mide dokusunda, anatomik olarak lenf dokusu bulunmamaktadır, ancak *H. pylori* enfeksiyonu sonucu oluşan gastritte, mukozal yüzeyde MALT adı verilen lenfoid foliküller görülmektedir. Gastrik karsinomaya kıyasla gastrik lenfomanın *H. pylori* ile ilişkisi çok daha belirgin düzeydedir. Gastrik lenfoma hücreleri genellikle yüzeylerinde otoantijenlere tanımlı Ig bulunan B hücreleridir. Yapılan retrospektif çalışmalarda gastrik lenfomalı hastaların % 72-98'inde *H. pylori* (+), yaklaşık % 70' inde de CagA (+) olarak saptanmıştır. Olguların % 70-80'inde ise *H. pylori* eradikasyonundan sonra gerileme olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, erken dönem gastrik lenfoma hastalarının histolojisinde, *H. pylori* eradikasyonundan sonra düzelme meydana gelmesi *H. pylori* enfeksiyonu ile gastrik lenfoma ilişkisinde kuvvetli bir kanıt olarak gösterilmektedir. Bunun yanında, patogeneizde

H. pylori'nin antijenik yapısının lenfoit yanıtı indüklemesi ve sonrasında neoplastik transformasyonun gelişmesinin rol aldığı düşünülmektedir [97,121].

2.12.7. Gastro-özofageal reflü hastalığı (GÖRH)

Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH), antireflü bariyerinin yetersiz kalması sonucunda fazla miktardaki mide içeriğinin özofagusa geri kaçmasıdır. Gastroözofageal reflü, herhangi bir semptom veya mukozal hasar görülmeyen fizyolojik bir olaydır. Yapılan çalışmalarda; *H. pylori*'nin eradikasyonundan sonra, duodenum ülserli hastalarda GÖRH sıklığının arttığı, Barrett metaplazisi gelişen GÖR hastalarında *H. pylori* enfeksiyonu sıklığının azaldığı, özellikle batı toplumlarında *H. pylori* enfeksiyonu sıklığındaki azalmayla birlikte GÖRH insidansının arttığı bildirilmiştir [122]. Bu verilere dayanarak, *H. pylori* enfeksiyonunun GÖR hastalığına karşı koruyucu bir rolü olabileceği ileri sürülmüştür. *H. pylori* enfeksiyonu, mide asidinin baskılanmasına ve enfeksiyonun şiddetlenerek antrumdan korpusa doğru yayılmasına ve bunun sonucunda da atrofik gastrit oluşumuna neden olabileceğinden dolayı, tedavi planlanan GÖR hastalarında tedavi öncesinde *H. pylori*'nin eradike edilmesi uygun bir yaklaşım olarak görülmektedir. GÖRH ile *H. pylori* enfeksiyonu arasındaki olası ilişkiler şu şekilde sıralanabilir.

1- GÖRH oluşumuna karşı *H. pylori* enfeksiyonunun koruyucu etkileri:

- Midede asit sekresyonunun azalması; *H. pylori*'nin korpusda oluşturduğu kronik gastrit sonucu gelişebilen atrofik gastrit, midedeki M3 reseptörlerinde sayıca azalma, IL-1 sekresyonunun artması gibi nedenlerden dolayı midede asit sekresyonu azalabilmektedir.
- Mide asidinin nötralizasyonu; *H. pylori* üreaz aktivitesi sonucunda oluşan amonyak, asidi nötralize ederek mide pH'sını yükseltmektedir.

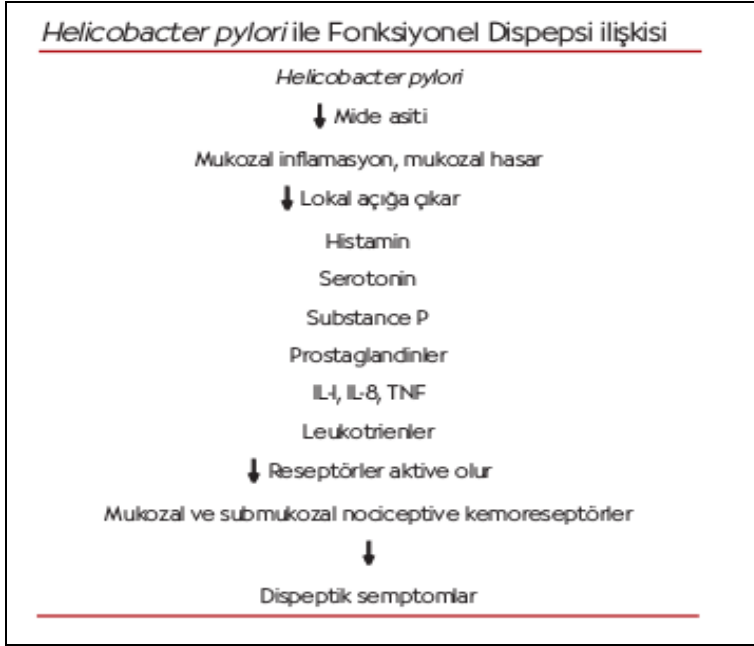
2- *H. pylori* enfeksiyonunun GÖRH oluşumunu kolaylaştırıcı etkileri:

- Alt özofagus sfinkteri (AÖS) istirahat basıncında ve TLESR (Transient lower esophageal sphincter relaxation) sıklığında artış; Kardiadaki *H. pylori* enfeksiyonu nedeniyle açığa çıkan sitokinler ve prostoglandinlerin etkisiyle AÖS basıncı azalabileceği ve TLESR sıklığında artış olabileceği ileri sürülmüştür.

- Hipergastrinemi ve asit sekresyonunun artması; Antrumda *H. pylori* enfeksiyonu sırasında, gastrin salgılayan G hücrelerinin indüklenmesi ve somatostatin salgılayan D hücrelerinin sayı ve fonksiyonlarının azalması mide asit sekresyonunun artmasına sebep olabilmektedir.
- Özefagus mukozasında meydana gelen hasar sonucunda ve mukozanın aside duyarlı hale gelmesi; kardial ve distal özofagusta kolonize olabilen *H. pylori*'nin oluşturduğu amonyak, sitotoksinler ve fosfolipazın özofagus mukozasını aside duyarlı hale getirebileceği ileri sürülmüştür [123-125].

2.12.8. Fonksiyonel dispepsi

Dispepsi, üst gastrointestinal sisteme ait olduğu düşünülen ağrı, bulantı, kusma, huzursuzluk, erken doyma, geğirme, şişkinlik gibi semptomların episodik veya persistan olarak görülmesi şeklinde tanımlanmaktadır [126]. Endoskopik inceleme sonuçlarına dayanarak yapılan çalışmalarda, fonksiyonel dispepsi prevalansı % 12-15 olarak saptanmıştır. Hastalığın etiopatogenezi halen kesin olarak bilinmemektedir. Ancak, hastalığın gelişiminin farklı etiyolojik faktörlere bağlı olabileceği düşünülerek araştırmacılar, fonksiyonel dispepsi sendromu olarak ele almaktadırlar [127]. *H. pylori*'nin eradikasyonundan sonra fonksiyonel dispepsi semptomlarının belirgin oranda gerilediğinin gözlenmesi, *H. pylori* enfeksiyonunun fonksiyonel dispepsi ile ilişkisinin en kuvvetli kanıtı olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.4) [126]. İngiltere'de gerçekleştirilen bir çalışmada *H. pylori* tedavisi gören hastaların % 21'inde, proton pompa inhibitörü (PPI) alanların ise % 7'sinde bir yıl sonra fonksiyonel dispepsi semptomlarının görülmediği saptanmıştır. Batı ülkelerinde yetişkin popülasyonda *H. pylori* görülme sıklığı % 20-30 iken dispepsi görülme sıklığı % 27-34'dür. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre fonksiyonel dispepside *H. pylori* görülme sıklığı yüksek oranlarda saptanmıştır. Dispepsi görülme sıklığı ülkemizde yaklaşık % 30 olarak rapor edilmiştir. *H. pylori* enfeksiyonunda nöropeptidlerin ya da TNF, IL-8, IL-1 gibi sitokinlerin artışının neden olduğu fizyopatolojik değişikliklerin fonksiyonel dispepsi semptomlarının oluşmasında tetikleyici rol oynayabileceği düşünülmektedir [49].



Şekil 2.4. *H. pylori* ile fonksiyonel dispepsi arasındaki ilişki

2.13. *H. pylori* Tanısında Kullanılan Yöntemler

H. pylori enfeksiyonunun tanısında uygulanmak üzere (direkt) invaziv ve (indirekt) invaziv olmayan birçok yöntem geliştirilmiştir (Çizelge 2.4). İnvaziv testler, endoskopi ile alınan biyopsi materyalinde bakterinin araştırılması esasına dayanır. Bu testler; kültür, hızlı üreaz testi (CLO test), histopatolojik inceleme ve moleküler araştırma yöntemi olan PCR'dan oluşmaktadır. İnvaziv olmayan testler; üre-nefes testi, serolojik testler ve yeni geliştirilmiş olan *H. pylori* Stool Antigen Test (HpSA)' dir [76].

Çizelge 2.4. *H. pylori* tanısında kullanılan testler

Metot	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Örnek	Yorum
Hızlı serolojik	88-95	86-95	Serum	Var ya da yok şeklinde 10 dk. da sonuç verir.
Laboratuvarda yapılan serolojik testler (ELISA)			Serum Mide sıvısı Dışkı	Antikor titrasyonu gösterir.
Üre nefes testi	90-95	90-95	Nefes	C ₁₃ 'te radyasyon yok. Pahalıdır. C ₁₄ daha ucuzdur.
Biyopside üreaz testi (CLO test)	89-98	93-98	Mide	20 dk. da sonuç alınır, biyopsi gereklidir.
Histoloji (Giemsa, Hematoksilen eozin, immünohistokimyasal analiz)	93-98	95-98	Mide Mukozası	Basit ve oldukça kesindir, tekrarlanabilir.

Çizelge 2.4. (devam) *H. pylori* tanısında kullanılan testler

Metot	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Örnek	Yorum
Kültür (Biyopsi)	77-95	100	Mide Mukozası	Uzun sürer, pahalıdır.
Kültür (Dışkı)			Dışkı	Antibiyotik duyarlılık testleri için araştırma amaçlıdır.
PCR	85-96	86-95	Dışkı, mide biyopsi örneği, mide suyu, diş taşları	Araştırma amaçlıdır.
HpSA	90-94	98-99	Dışkı	Dışkıda <i>H. pylori</i> antijenini saptayan ELISA testidir.

2.13.1. *H. pylori* tanısında kullanılan örnekler

H. pylori tanısında; mide biyopsi materyali, dışkı örnekleri, kan ve serum örnekleri kullanılmaktadır. Örneklerin doğru şekilde alınması taşıma koşullarına uygun halde laboratuvara getirilmesi ve saklanması oldukça önemlidir. Kültür, histopatoloji, PCR ve üreaz testi için mide biyopsi materyali kullanılmaktadır. Biyopsi materyali alınmadan 5-7 gün öncesinde hastaların antibiyotik tedavisi kesilmelidir. *H. pylori* antijenlerinin saptanabilmesi ve *H. pylori* DNA'sının araştırılması amacıyla hastalardan dışkı örnekleri alınmalıdır. Serolojik yöntemler ile *H. pylori* tanısında kan ve serum örnekleri kullanılmaktadır. Serumda bakteriye özgül IgA ve IgG seviyeleri saptanmaktadır [75].

2.13.2. İnvaziv yöntemler

Kültür

Gastrik biyopsi materyali alındıktan sonra *in vitro* ortamda çeşitli yöntemler uygulanarak *H. pylori* çoğaltılabilmektedir. *H. pylori* kuruluğa ve çevre sıcaklığına duyarlı olan ve oda sıcaklığında canlılığını kaybedebilen bir bakteridir. Bu nedenle alınan örneklerin uygun taşıma koşullarında süratle laboratuvara iletilmesi ve kısa sürede ekimlerinin yapılması gerekmektedir. İçeriği zenginleştirilmiş BHI broth, stuart taşıma besiyeri, gliserol içeren brucella broth veya cysteine-albimi broth, örneklerin laboratuvara iletilmesinde kullanılabilen uygun taşıma ortamlarıdır.

Kültür için genellikle % 5-10 at kanı veya koyun kanı ilave edilen brucella agar, columbia agar, brain heart infusion agar veya trypticase soy agar kullanılmaktadır [128]. *H. pylori* %

5-10 CO₂ içeren ortamda üreyebilen kapnofilik bir mikroorganizmadır. Yüksek CO₂ konsantrasyonu gereksinimi muhtemelen çok sayıda faktörle ilişkilidir. Örneğin, CO₂ fiksasyonu yoluyla piruvat oluşumu, karbon asimilasyonu için bir yol oluşturabilmekte ve *H. pylori* karbonik anhidrazı CO₂ ile HCO₃⁻ün birbirine dönüşümünü katalizlediği için CO₂'in pH homeostazisinde rol oynayabilmektedir [129]. *H. pylori*, bir oksijen duyarlı mikroaerofildir ve bu nedenle *H. pylori*'yi mide biopsi örneklerinden ilk başta kültüre etmek için mikroaerobik ortam kullanılmaktadır. *H. pylori*'nin oksijen duyarlılığı, esansiyel bakteriyel enzimlerin oksijen-bağımlı inaktivasyonuna atfedilir [130,131]. Yüksek hücre yoğunluğunda, laboratuarda adapte edilmiş *H. pylori* suşları mikroaerobik (< % 5 oksijen)'den tümüyle aerobik'e kadar (% 21 oksijen) farklı atmosferik oksijen gerilimlerinde üreyebilir. *H. pylori*'nin hemolizin oluşumu, metronidazol direnci, ferredoksin oksidoredüktaz aktivitesi ve epitel hücrelerinde değişiklikleri indüklemeye yeteneği gibi çok sayıda karakteristiğinin, bakterinin mikroaerobik ya da aerobik ortamda çoğaltılması durumunda farklılıklar gösterdiği rapor edilmiştir [132-134].

H. pylori 'nin sıvı kültürde çoğaltılması gerektiğinde, sıklıkla fetal bovin serumla (% 5-10) zenginleştirilmiş Brucella broth kullanılır. Genel olarak, *H. pylori* kültürü için tanımlanan ortam farklı tuzlar, bir pürin, vitaminler, aminoasitler ve eser metaller içerir. Bakteriyel çoğalmayı arttırmak için tanımlanan ortam bovin serum albüminle zenginleştirilebilir. *H. pylori* 'nin kültüre edilmesi için tanımlanan ortamın kullanılması, organizmanın beslenme gereksinimleri, fizyolojisi ve metabolizmasının anlaşılmasında önemli rolü olmuştur. Neredeyse tüm *H. pylori* suşları çoğalma için arjinin, histidin, lösin, metionin, fenilalanin ve valine ihtiyaç duyarlar. İlginç olarak *H. pylori* çoğalması için esansiyel olan aminoasitler, insanlar için esansiyel olan aminoasitler ile benzerlik göstermektedir. Suşların alanin, serin, sistein, prolin ve izolösin gereksinimleri farklılık göstermektedir. *H. pylori* çoğalması için gerekli diğer faktörler piruvat, tiamin ve hipoksantin yanında demir, çinko ve magnezyum gibi farklı metalleri içerir [135-137]. Bu beslenme gereksinimi, *H. pylori* genomunda karşılık gelen biyosentetik genlerin eksikliği ile korelasyon göstermektedir.

H. pylori in vitro kültürü yapılırken uygun besiyerinde, 37°C ve % 5–10 CO₂ içeren ortamda 5-7 gün süre ile inkübe edilmelidir. İnkübasyon sonucunda kanlı agarda küçük, şeffaf, su damlası veya yuvarlak şekilli koloniler oluşturmaktadır. *H. pylori*'nin gastrik biyopsi materyalinden direkt hazırlanan ve kültürden hazırlanan Gram boyama görüntüleri arasında farklılıklar gözlenebilmektedir. Kültürden izole edilen *H. pylori* suşları ile yapılan

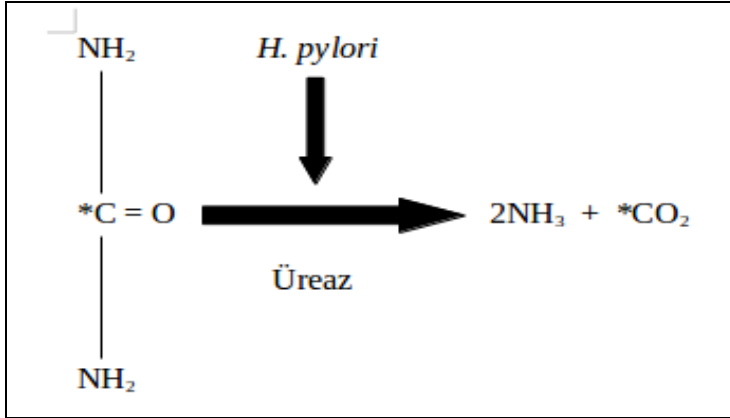
Gram boyamada bakteri tipik görünümlerinin yanısıra düz basiller şeklinde de görülebilirken, doku biyopsi örneklerinden yapılan boyamalarda tipik görünümleri olan helikal ve daha kıvrımlı şekilde görülmektedirler [138].

Histopatolojik inceleme

Histopatolojik incelemeler, gastrik mukozada *H. pylori*'nin neden olduğu lezyonun sınıflandırılması ve tanımlanmasında önemlidir ve altın standart olarak kabul edilmektedir. Histopatolojik inceleme ile > %90 özgüllük ve duyarlılıkla *H. pylori* tanımlanabilmektedir. İnceleme için antrum ve korpus bölgelerinden ayrı ayrı biyopsi materyali alınması gerekmektedir. Gastroduodenal patolojinin düzeyi ile premalign değişiklikler histopatolojik inceleme sonucunda tespit edilmektedir. Kronik gastrit veya peptik ülser şüpheli hastalardan alınan biyopsi materyalinin histopatolojik incelemesi sonucunda da *H. pylori* tespit edilebilmektedir. Antrum ve korpustan alınan biyopsi materyalleri, histopatolojik inceleme öncesinde sırasıyla formalinde fiksasyon, HE boyama ve özel boyama işlemlerine tabi tutulmaktadır. HE boyaması sonucunda mikroskopik olarak bakıldığında, *H. pylori*, yüzey epiteline tutunmuş, mukus tabakasında ve çoğunlukla kriptler içerisinde gözlenmektedir. Giemsa ve modifiye steiner gümüş boyama teknikleri kullanılarak yapılan boyamalar sonucunda yüzey epiteline tutunan *H. pylori* mikroskopik olarak görülebilmektedir [30].

Hızlı üreaz testi

Üreaz testi, mikroorganizmaların üreyi parçalayabilme yeteneklerinin test edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Üreaz hidrolizasyon testi ile bakteriler cins ve tür düzeyinde tanımlanabilmektedir. Pek çok mikroorganizma sahip oldukları üreaz enzim aktivitesi ile üreyi kullanma yeteneğine sahiptir. Üre, karbonik asidin bir diamid'idir. Bütün amidler kolayca hidrolize olabilmektedir. Üreaz enzim aktivitesi için optimal pH 7,0'dir. Ürenin hidrolizasyonu, üreaz enziminin katalizörlüğünde gerçekleşen bir reaksiyondur. Reaksiyon sonucunda 2 molekül amonyak ve karbondioksit meydana gelmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. *H. pylori* üreaz aktivitesi

Reaksiyon sonucunda oluşan amonyak pH'yı yükselterek alkali bir ortam yaratmaktadır. Alkali ürünler, pH indikatörü fenol kırmızısının varlığında ortam renginin sarıdan pembemsi-kırmızıya dönüşmesi ile saptanmaktadır. Bu durum, dokuda bakterinin varlığını göstermektedir. Biyopsi materyallerinde üreaz aktivitesinin araştırılması amacıyla firmalarca geliştirilmiş, CLO test, PyloriTek gibi hazır ticari kitler bulunmaktadır. Hızlı üreaz testi ile > % 90 duyarlılık ve özgüllükte *H. pylori* tanımlanabilmektedir [75]

Tedavide kullanılan antibiyotikler, bizmut içeren bileşikler ve proton pompa inhibitörleri, *H. pylori* miktarını azaltabileceğinden uygulanan test yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Hızlı üreaz testinde, *H. pylori*'nin yoğun olmadığı enfeksiyonlar atlanabileceğinden negatif bir test sonucu *H. pylori* enfeksiyonunun olmadığını ya da eradikasyonunu göstermek için yeterli olmamaktadır. CLO test gibi ticari kitler kullanılarak yapılan üreaz testleri daha ekonomik olması, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması, 3-24 saat gibi bir sürede sonuç vermesi nedeniyle biyopsi materyalinde *H. pylori*'nin tanımlanması için oldukça yaygın biçimde kullanılmaktadır [139].

Moleküler tanı yöntemleri

Gastrik biyopsi materyalinde *H. pylori*'nin spesifik olarak saptanabilmesinde bakteriye ait 16S rRNA, 23S rRNA, random kromozom dizileri, 24 kDa türe özgü protein kodlayan genler, üreaz A (ureA), üreaz C (ureC), glmM ve vacA gibi farklı hedef genlerine yönelik PCR yöntemi kullanılmaktadır. PCR ile > % 85 özgüllük ve duyarlılıkla *H. pylori* tanımlanabilmektedir. Çok küçük biyopsi materyallerinde, çok az sayıda bakterinin dahi saptanmasına olanak sağlayan bir yöntemdir. Yapılacak olan teknik işlemler ve taşıma için özel koşullar gerektirmemektedir. Ancak PCR metodu, rutin uygulamalarda tanı yöntemi

olarak pek fazla tercih edilmemektedir. Uygulamadaki teknik zorluklar, inhibitörlerin varlığı, daha önce tedavi olmuş hastaların gastrik mukozasından DNA segmentlerinin saptanması, elektroforetik jel üzerindeki bantların yorumlanmasında yapılan hatalar nedeni ile yanlış negatif sonuçların alınması, ekonomik olmaması yöntemin dezavantajları olarak görülmektedir [30,97].

Moleküler yöntemler; antibiyotik direncine neden olabilecek mutasyonların saptanmasında ve epidemiyolojik araştırma çalışmalarında *H. pylori* suşları arasındaki genetik farklılıkların saptanması ve patogenezinin araştırılmasında kullanılması uygun olan yöntemlerdir. Antibiyotik ile tedavi sonrasında *H. pylori* sayısı kültür veya diğer tanı yöntemleri ile saptanamayacak kadar az olabileceğinden, PCR'ın tedavi takibinde tercih edilebilecek bir yöntem olduğu bildirilmektedir [140].

2.13.3. İnvaziv olmayan yöntemler

Üre-nefes testi (ÜNT)

Endoskopi yapılmasına gerek duyulmadan, *H. pylori* enfeksiyonunun direkt taranmasına olanak sağlayan üre-nefes testi, tedavi edilmemiş hastalarda aktif enfeksiyonun başlangıç tanısında ve tedaviden 4-12 hafta sonra tedavi etkinliğinin takibinde kullanılabilen % 90-95 duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir testtir. FDA tarafından onaylanan üre-nefes testinde iki tip karbon izotopu (radyoaktif ^{14}C , non-radyoaktif ^{13}C) kullanılmaktadır. İşaretli karbon atomu içeren üre solüsyonunun hastaya iştirilmesi sonrasında, *H. pylori*'nin üreaz aktivitesi sonucu oluşan izotop işaretli CO_2 akciğerlerden nefes ile atılmakta ve işaretli karbon bu nefes örneğinde tespit edilmektedir. Üredeki karbonu işaretlemede stabil izotop ^{13}C kullanılmaktadır. ^{13}C izotopu, radyoaktivite içermemesi ve ^{14}C ile benzer performans göstermesi nedeniyle artan bir oranda daha çok talep edilmektedir. Özellikle çocuklarda ve hamilelerde güvenle kullanılabilmesi, çocuk ve yetişkinlerde epidemiyolojik çalışmalara uygun olması ve takip amacıyla testin birden çok kez uygulanması gereken durumlarda dahi kullanılabilir olması testin en büyük avantajları arasında gösterilmektedir [30,75]

Tanıda kullanılan diğer yöntemlerde *H. pylori* yalnızca örneğin alındığı bölgede taranabilmekte, buna karşılık üre-nefes testi ile *H. pylori*'nin saptanmasında genel bir değerlendirme sağlanmaktadır. Ancak test için bakteri sayısının yüksek miktarlarda

bulunması gerekmektedir. Bakteri sayısında azalmaya neden olabilecek herhangi bir ilaç yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Bu nedenle test yapılmadan; bir ay önce antibiyotikler kesilmeli, bir hafta önce mide asit inhibitörleri kesilmeli (sükralfat, omeprazol, esomeprazol, lansoprazol), bir hafta önce histamin H2 reseptör antagonistleri (simetidin, ranitidin, famotidin) ve antiasitler (talcid, rennie gibi) kesilmelidir [141].

Serolojik yöntemler

H. pylori'nin kolonize olduğu bireylerde güçlü lokal ve sistemik humoral yanıt oluşmaktadır. Midede salgısal IgA, serumda ise IgG ve IgA seviyeleri yükselir. Diğer tanı yöntemlerinden farklı olarak serolojik testler antibiyotik ile tedaviden etkilenmezler. Bu nedenle öncelikli kullanılacak yöntemler olarak görülmektedir. Etkin bir tedaviden sonra antikor titresi oldukça yavaş düşmektedir. Bu durumda testin pozitif olması halen aktif enfeksiyon bulunduğu anlamına gelmemektedir. Bu nedenle, *H. pylori* eradikasyon tedavisinin etkinliğini araştırmada ve reenfeksiyon oranlarının ölçümünde kullanışlı yöntemler değildir ancak epidemiyolojik çalışmalarda toplum taramaları için tercih edilmektedir [142].

H. pylori enfeksiyonuna cevap olarak oluşan antikorlar, ELISA, indirekt immunofloresan, hemaglutinasyon, kompleman fiksasyon, lateks aglutinasyon veya western blotting testleriyle araştırılmaktadır. Saklanmış serum örnekleri ile çalışmaya imkan sağlayan bu testler ekonomik ve kolay uygulanmaktadır.

Serumda IgG'nin tespit edilmesinde günümüzde yaygın olarak kullanılan serolojik yöntem ELISA'dır. ELISA ile yaklaşık % 95 özgüllük ve duyarlılıkla sonuç alınmaktadır. Serolojik testlerin ekonomik olmalarına rağmen, diğer noninvaziv yöntemlerden olan ÜNT ve gaitada antijen aranmasına dayalı testlere kıyasla daha azdır. IgG sonuçlarındaki olası yalancı negatiflik durumlarında serum IgA değerlerine bakılmaktadır [75].

Dışkıda antijen taranması (HpSA)

Üre-nefes testinin uygulanmasının güç olduğu durumlarda (pediatrik hastalar), antikor sonuçlarının güvenilir olmadığı durumlarda (HIV-1 ile infekte bireyler), FDA onaylı, *H. pylori*'nin direkt fekal antijen taranması testi yapılmaktadır. Direk fekal antijen testi maddi

açıdan da oldukça ekonomiktir. Yöntem, poliklonal antikor emdirilmiş kuyucuklarda, taze dışkı örneklerindeki *H. pylori* antijenlerinin taranması esasına dayanmaktadır [143]. Calvet ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, kart test kullanarak fekal *H. pylori* antijeni taraması yapılmış ve elde ettikleri sonuçlar testin duyarlılığının % 89-91, özgüllüğünün ise % 86-93 aralığında olduğu gösterilmiştir [144].

Dışkıda genetik materyal taranması

H. pylori genetik materyalinin saptanmasına olanak sağlayan materyallerden biri de dışkıdır. *H. pylori* DNA'sının dışkıda taranması esasına dayanan çalışmalarda başarı oranı % 25-100 arasında değişen oranlarda rapor edilmiştir. Bu değişikliğin, gastrointestinal sistemde bulunan inhibitörlerin varlığına bağlı olduğu düşünülmektedir. İnsan dışkısında, DNA elde edilmesini inhibe eden kompleks polisakkaritler gibi inhibitörler bulunmaktadır [145,146]. Dışkı haricinde gastrik olmayan materyallerden *H. pylori* DNA'sının saptanması mümkündür. Bonamico ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, PCR ile dental plak ve özellikle tükürük kullanılarak bakteri DNA'sının saptanmasının son derece spesifik olduğu fakat duyarlılığının iyi olmadığı rapor edilmiştir [143].

Tükürük ve idrar testleri

Diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan bu testler idrar ve tükürükte anti-*H. pylori* IgG antikorlarının saptanması amacıyla ticari kitler kullanılarak uygulanmaktadır [147].

2.14. *H. pylori* 'de Tedavi ve Direnç

H. pylori'nin keşfinden günümüze kadar 30 yılı aşkın bir süre geçmiş olmasına rağmen enfeksiyonun tedavisi için ideal bir ilaç mevcut değildir. *H. pylori* eradikasyonunda en az % 85'in üzerinde başarı sağlanması amaçlanmaktadır. Sadece bir antibiyotik kullanımı sonucunda elde edilen eradikasyon oranlarının çok düşük olması nedeniyle yeni tedavi arayışları gündeme gelmiştir. Başlangıç olarak, PPI (2x1) + amoksisilin (1 g 2x1) ya da PPI (2x1) + klaritromisin (500 mg 2x1) ikili tedavi yöntemi önerilmiş olsa da eradikasyon oranı %85'in altında bulunduğu için bu ikili tedavi protokolü yerine üçlü tedavi önerilmiştir. Bu amaçla, proton pompa inhibitörü + klaritromisin + amoksisilin (ya da

Metronidazol) üçlü tedavisinin 7 -10- 14 günlük tedavileri yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur. Ancak tedavi protokollerinde ilaçların farklı dozlarda kullanılması, kullanım sürelerinin farklı olması, tedavi sonrasında kontrollerin farklı zamanlarda yapılması, kullanılan testlerin farklı olması nedeniyle tedavide elde edilen başarı sonuçları da farklılıklar göstermiştir. Bazı çalışma sonuçları *H. pylori* eradikasyonunda bu tedavi protokolleri ile % 90'lara varan oranlarda başarı sağlandığını ortaya koymuştur [127].

Çinde “National *Helicobacter pylori* Research Group” tarafından yapılan bir çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, amoksisilin’e direnç % 2,7, klaritromisin’e direnç % 27,6, metronidazol’e direnç ise % 75,6 olarak rapor edilmiştir (Çizelge 2.5) [127]. Son 10 yılda *H. pylori*'nin klaritromisin ve metronidazol'e karşı direnç kazanması, üçlü tedavi başarı oranının % 80'lerin altına (% 50-79) düşmesine sebep olmuştur. 2005 yılında yapılan Maastricht III konferansında, klaritromisin direncinin % 15-20'nin, metronidazol direncinin ise % 40'ın altında olduğu toplumlarda bu kombinasyonun ilk seçenek olarak tercih edilmesi önerilmektedir. Bunun yanında direncin yüksek olduğu toplumlarda, bizmut + PPI + iki antibiyotik, bizmut temini olası değil ise PPI + üç antibiyotikten oluşan dördütlü tedaviler önerilmektedir [148].

Çizelge 2.5. *H. pylori*'nin antimikrobiyal direnç sıklığı

Ülke	Yıl	Klaritromisin %	Metronidazol %	Amoksisilin %	Fluorokinolonlar %
ABD	2004	12,9	25,1	0,9	-
Kuzey Avrupa	2012	7,7	28,6	-	7,7
Orta Avrupa	2012	18,7	43,8	-	18,6
Batı Avrupa	2012	21,5	29,7	-	13,1
Kore	2012	10,8	30,3	2,2	15,7
Çin	2011	84,9	61,6	-	13,7
Türkiye	2003	18	60	-	-
Çin	2007	27,6	75,6	2,7	-

H. pylori'nin klaritromisin, metronidazol, siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı direnç kazanırken amoksisilin’e nadiren direnç kazandığı (% 0-1) ve bu oranın zamanla değişmediği rapor edilmiştir. Bu nedenle, amoksisilin *H. pylori* eradikasyonunda halen temel ajan olarak kullanılmaktadır. Üçlü tedavinin başarısızlığı durumunda dördütlü tedavi, dördütlü tedavideki başarısızlık durumunda ise levofloksasin ya da rifabutin tedavisi önerilmekte; bunun yanında, bizmutlu dördütlü tedavide başarısızlık durumunda ardışık tedavi, ardışık tedavinin başarısızlığı durumunda ise yine levofloksasin veya rifabutin tedavisi önerilmektedir. Ancak yeterli veri bulunmaması ve levofloksasine direnç

gelişiminden kaçınılması için bu tedavi yöntemi ilk tercih olarak kullanılmamalıdır. Tedavide gelinen bu nokta çaresizliği ifade etmektedir. Çizelge 2.6'da *H. pylori* eradikasyonu için önerilen tedaviler gösterilmiştir [127].

Çizelge 2.6. *H. pylori* eradikasyonu için önerilen tedaviler

Tedavi	İlaç Doz/Gün	Süre
Üçlü Tedavi	PPI 2x1 Amoksisilin 1 g 2x1 Klaritromisin 500 mg 2x1	14 gün
Bizmutlu Dörtlü Tedavi	PPI 2x1 Kolloidal Bizmut Subsütrat 200 mg 4x1 Metronidazol 500 mg 3x1 Tetraskilin 500 mg 3x1	14 gün
Bizmutsuz Dörtlü Tedavi	PPI 2x1 Amoksisilin 1 g 2x1 Metronidazol 500 mg 3x1 Tetraskilin 500 mg 3x	10-14 gün
Ardışık Tedavi	PPI 2x1 + Amoksisilin 1 g 2x1/5 gün Sonra PPI 2x1+ Klaritromisin 500 mg 2x1+ Tinidazol 500 mg 2x1/5 gün	10 gün
Levofloksasinli Üçlü Tedavi	PPI 2x1 + Amoksisilin 1 g 2x1 + Levofloksasin 1 g 2x1	10 gün
Rifabutinli Üçlü Tedavi	PPI 2x1+ Amoksisilin 1 g 2x1 + Rifabutin 150 mg 2x1	10 gün

Son zamanlarda, *H. pylori*'nin biyoloji ve fizyolojisinin daha iyi anlaşılması, yapılan çalışmaların gözden geçirilmesi sonucunda ikili tedavinin kurtarıcı rolü yeniden gündeme gelmiştir. Yüksek doz PPI kullanılarak uygulanan ikili tedavi ile büyük başarılar elde edilmiştir. T. Furuta ve arkadaşları, üçlü tedavi (PPI + Amoksisilin + Klaritromisin) ile *H. pylori* eradikasyonunda başarı sağlanamayan olgularda Rabeprazol 10 mg 4x1+ Amoksisilin 500 mg 4x1/2 haftalık ikili tedavi uygulayarak eradikasyonu sağlamışlardır [127]. Son zamanlarda yeniden gündeme gelen yüksek doz PPI+Amoksisilin ikili tedavisinin *H. pylori* eradikasyonu için yeni bir umut olup olmadığı zamanla anlaşılacaktır.

2.14.1. Re-enfeksiyon

H. pylori enfeksiyonunun tekrar etmesi sık karşılaşılan bir durum değildir. Aynı tür *H. pylori*'nin yeniden kolonizasyonu, nüks, yeni bir tür *H. pylori*'nin kolonizasyonu ise re-enfeksiyon olarak adlandırılmaktadır. Düşük sosyoekonomik seviyedeki toplumlarda *H. pylori* prevalansının yüksek olması, re-enfeksiyon için risk faktörleri arasında gösterilmektedir. Re-enfeksiyon oranı gelişmiş ülkelerde yıllık kişi başı % 3,4, gelişmekte

olan ülkelerde ise % 8,7 olarak rapor edilmiştir. Ancak Çin, Güney Afrika, Polonya ve ülkemizin de içinde bulunduğu bazı ülkelerde *H. pylori* prevalansı yüksek olmasına rağmen, re-enfeksiyon oranları düşük olarak rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalar re-enfeksiyonda aile içi bulaşın önemli bir kaynak olmadığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, asemptomatik aile bireylerinin tedavi edilmesi önerilmemektedir [148].

H. pylori günümüzde çok sık karşılaşılan ve başta direnç problemi olmak üzere tedavisi gittikçe güçleşen patojen bir mikroorganizmadır. Tedavide % 100 başarı sağlanabilmesi amacıyla, yeni tedavi modaliteleri ile ilgili dünyanın farklı bölgelerinden, geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır [149].

2.14.2. Fitoterapi (bitkisel tedavi)

Hastalıkların tedavi edilmesi amacıyla bitkilerden faydalanılması ve etkilerinin araştırılması bilimi fitoterapi olarak adlandırılmaktadır. Yeryüzünde bulunan bitki türü sayısının 250.000-500.000 arasında olduğu kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü kayıtlarına göre dünya nüfusunun büyük bir bölümü (% 70-80) tedavi ya da korunmak amacıyla geleneksel tıptan yararlanmaktadır. Bu amaçla yararlanılan tıbbi bitki türünün 70.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 21.000 bitki türünün ilaç hazırlamak için uygun olduğu kabul edilmiştir [149].

1980’li yılların ikinci yarısından itibaren sağlanan teknolojik gelişmeler, özellikle bitkisel ilaç araştırmalarına farklı bir boyut getirmiştir. Geliştirilen fitokimyasal ayrıştırma ve analiz teknikleri ile bitkilerin bileşimleri çözümlenmeye başlanmış, biyolojik yöntemlerdeki (mikrobiyolojik, biyokimyasal, in vitro, in vivo) gelişmeler ile bitki özütleri ve bileşenlerinin etkinliği araştırılabilmektedir. Uzun yıllar boyunca doğrudan bitki kısımları kullanılarak yapılan tedavi modelleri günümüzde çağdaş bilim uygulamaları ışığında tekrar ele alınmış ve “Çağdaş Fitoterapi” kavramı hayata geçirilmiştir. Avrupa Birliği üyesi ülkelerde kabul gören ve uygulanan bu yeni kavram kısaca “Hastalıklardan korunmak veya tedaviyi desteklemek amacı ile tıbbi bitkilerden ve onların etkin maddelerini taşıyan kısımlarından (droglardan) veya bir işlem yoluyla elde edilmiş doğal ürünlerden hareketle standardize edilmiş farmasötik formlar (tablet, kapsül, tentür vb.) kullanmak” olarak tanımlanır. Dolayısıyla günümüzün fitoterapi uygulamaları aslında çağdaş anlamda bitkiden bitkisel ilaca (fitofarmasötik) geçişi sağlayan uygulamalardır.

Yapılan çalışmalar, bitkisel ürünlerin dünya da ne kadar yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir. ABD’de tamamlayıcı tıp uzmanı olan hekimlere tedavi desteği almak amacıyla yıllık 600 milyondan fazla başvuru olduğu ve 18 yaş üstü toplumun % 60’ının yılda en az bir kez bitkisel tedavi ürünü kullandığı bildirilmiştir. Almanya’da doktorların hastalarına tedavilerin % 66’sında bitkisel ürünler verdikleri ve Japonya’da bu oranın % 70’leri bulduğu rapor edilmiştir. Bu bitkisel tedaviler bizzat doktorlar tarafından hastalarına önerilmektedir. Ülkemizde ise dünya ile kıyaslandığında tedavide bitkisel ürünlerden faydalanma oranı oldukça düşük olduğu gibi, kontrolsüz reklam ve satış nedeniyle toplumsal boyutta ne kadar bitkisel ürün kullanıldığını tespit etmek mümkün değildir [150,151].

H. pylori'ye karşı kullanılan doğal ekstreler ve uçucu yağlar

Doğal ürünler tarafından sunulan çok sayıda aktivite, biyoaktif bileşiklerin varlığıyla ilişkilidir. Bu aktivitelerin çoğunluğundan flavonoidler sorumludur. Çok sayıda çalışma flavonoidlerin *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin hangi mekanizmalarla ilişkili olduğunu araştırmıştır. Pek çok çalışma, flavonoid ve kalkon sınıflarının bileşiklerinin üreaz enzimini inhibe ettiğini göstermiştir. Bu durum, bir dereceye kadar kobaylarda quercetin flavonoidinin *H. pylori* 'ye karşı *in vivo* aktivitesini ve bu patojenin tedavisinde kullanılan çok sayıda ilaçta bulunan bir kalkon türevi olan sofalkon'un etkisini açıklamaktadır. Aynı zamanda VacA nötralizasyonu ve toll-like reseptör 4 (TLR4) sinyali ile interferans gibi başka mekanizmalar da flavonoidlerin aktivitesini açıklamaktadır. Aynı zamanda bazı flavonoidlerin *H. pylori* 'ye karşı direk etki gösteriyor olması ya da geleneksel tedavide kullanılan antibiyotikler ile sinerjistik etki gösteriyor olması da mümkündür [152,153].

Çok sayıda doğal ürünün *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinmektedir ve yüzyıllar boyunca çok çeşitli bitkiler ve alternatif kaynaklardan türetilen maddeler gastrointestinal bozuklukların tedavisinde kullanılmıştır [154]. Dünya literatüründe bildirilen bulgular *H. pylori* ye karşı kullanılan bitki ekstreleri ile önemli sonuçlar ortaya koymuş (Çizelge 2.7) [152] ve enfeksiyonlara karşı kullanılan terapötik ajanlara önemli katkıda bulunmuşlardır.

Çizelge 2.7. Bazı bitkilerin anti *H. pylori* aktiviteleri

Bilimsel Ad	Aile	Bitki Kısmı	Materyal	Analiz Tipi
Feijoa sellowiana (Berg.) Burret.	Myrtaceae	Fruit	Acetone Extract	<i>In vitro</i>
Strychnos pseudoquina A. St. Hil.	Loganiaceae	Leaves	Methanol extract/ alkaloid enriched fraction	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>
Bixa orellana L.	Bixaceae	Seed	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Chamomilla recutita L.	Asteraceae	Inflorescence	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Ilex paraguariensis A. St.-Hil	Aquifoliaceae	Green leaf	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Ilex paraguariensis A. St.-Hil	Aquifoliaceae	Roasted Leaf	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Malva sylvestris L.	Malvaceae	Inflorescence and leaves	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Plantago major L.	Plantaginaceae	Above-ground parts	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Rheum rhaponticum L.	Polygonaceae	Root	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Punica granatum L.	Punicaceae	Peel	Methanol Extract	<i>In vitro</i>
Juglans regia L.	Juglandaceae	Fruit ridge	Methanol Extract	<i>In vitro</i>
Davilla elliptica St. Hil.	Dilleniaceae	Leaves	Methanol Extract	<i>In vitro</i>
Davilla nitida (Vahl.) Kubitzki	Dilleniaceae	Leaves	Methanol Extract	<i>In vitro</i>
Byrsonima fagifolia Niedenzu (IK.)	Malpighiaceae	Leaves	Methanol Extract	<i>In vitro</i>
Qualea parviflora Mart.	Vochysiaceae	Bark	Methanol Extract	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>
Hancornia speciosa Gomez	Apocynaceae	Bark	Hydroalcoholic extract	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>
Byrsonima intermedia A. Juss.	Malpighiaceae	Leaves	Methanol Extract	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>
Larrea divaricata Cav.	Zygophyllaceae	Leaves and tender branche	Aqueous extract	<i>In vitro</i>
Heridium erinaceus	Hericiaceae	Mushrooms	Ethanol Extract	<i>In vitro</i>
Allium sativum L.	Liliaceae	Bulb	Aqueous extract	<i>In vitro</i>
Pistacia lentiscus (L.) var. chia (Duham)	Anacardiaceae	Mastic gum	Extract/acid ve neutral fractions	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>

Brezilya farmakopesine göre ekstre; hayvansal ya da bitkisel maddelerden elde edilen sıvı, katı ya da orta kıvamda preparatlardır. Bir ekstre, kullanılan maddenin ihtiyacına göre etanol, su ya da başka bir çözücü kullanılarak süzme, ıslatma ya da başka uygun ve onaylanmış metodlarla hazırlanabilir. Bu işlemten sonra arzu edilmeyen maddeler elimine edilebilir [152].

Basile ve arkadaşları, *Feijoa sellowiana* (Berg.) Burret. (Myrtaceae) meyvelerinin aseton ekstralarının *in vitro* olarak ciddi anti *H. pylori* aktivitesi olduğunu göstermişlerdir. Bu aktivitenin, içeriğindeki flavon bileşiğinin tek başına ölçüldüğünde metronidazol (0,5 µg/mL) kontrol grubuna kıyasla bakteriye karşı daha fazla aktivite göstermesi ile açıklanabileceğini rapor etmişlerdir [155].

Bonamin ve arkadaşları, bir metanol ekstresi (ME) ve *Strychnos pseudoquina* A. St. Hil. (Loganiaceae)'nın alkaloid ile zenginleştirilmiş bir fraksiyonunun (EAE) aracılık ettiği iyileşme süreci ve anti *H. pylori* aktivitesini değerlendirmişlerdir [156]. EAE'nin 75 mg/mL MİK değerinin, *in vitro* olarak etkili anti *H. pylori* aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. EAE'nin aynı zamanda bakteriyel ajanlara karşı önemli bir koruyucu faktör olan süperoksit dismutaz salınım işlemi de çok etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Cogo ve arkadaşları, gastrointestinal hastalıklarda kullanılan geleneksel tıbbi bitkilerin farmakolojik etkileri olup olmadığını araştırmışlardır [154]. Bu bağlamda, tamamı gastrointestinal hastalıklarda kullanılan *Bixa orellana* L. (Bixaceae), *Chamomilla recutita* L. (Asteraceae), *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (Aquifoliaceae), *Malva sylvestris* L. (Malvaceae), *Plantago major* L. (Plantaginaceae) ve *Rheum rhaponticum* L. (Polygonaceae)'dan elde edilen ekstratlar, *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel etkileri açısından standart (ATCC) ve klinik suşlara karşı değerlendirilmişlerdir. Sonuçlar *B. orellana* L., *C. recutita* L. *I. paraguariensis* A. St.-Hil ve *M. sylvestris* L.'den elde edilen ekstratların, *H. pylori* 'nin *in vitro* çoğalmasını inhibe ettiğini göstermiştir.

Ayrıca, gastrointestinal hastalıklarda kullanılan 23 tıbbi bitkinin metanol ekstratlarını *in vitro* olarak *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel aktivite açısından değerlendirmişlerdir [157]. Bitkiler İran toplumunun geleneksel tıbbi uygulamaları baz alınarak seçilmişlerdir. Bunlar içerisinde sadece *Punica granatum* L. (Punicaceae) ve *Juglans regia* L. (Juglandaceae) *H. pylori* suşlarına karşı agar difüzyon tekniğine göre sırayla 39 ve 16 mm inhibisyon zonları ile yüksek aktivite göstermiştir.

Davilla elliptica St. Hil. (Dilleniaceae) ve *Davilla nitida* (Vahl.) Kubitzki. (Dilleniaceae) yapraklarından elde edilen metanol ekstratlarının anti ülserojenik, immünolojik ve anti *H. pylori* aktivitelerini de Kushima ve arkadaşları çalışmışlardır [158]. Her iki ekstrenin gastrik mukozayı koruduğu, *D. nitida* (MİK 125 µg/mL)'nın, *D. elliptica* (MİK 250

$\mu\text{g/mL}$)'ya kıyasla daha iyi aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Gösterilen aktivite muhtemelen *D. Nitida* 'da terpenler, flavonoidler, taninler ve diğer bileşiklerin daha yüksek miktarlarda bulunması ile açıklanmaktadır.

Moraes ve arkadaşları ise çalışmalarında, *in vitro* ve *in vivo* yaklaşımlarla, Brezilya savana bölgesinde yetişen, "mangabeira" olarak da bilinen orta büyüklükte bir ağaç olan *Hancornia speciosa* Gomez. (*Apocynaceae*) kabuğundan elde edilen hidroalkolik ekstrelerin anti *H. pylori* potansiyelini göstermişlerdir [159]. Yazarlar, ekstrenin bakteri üremesini *in vitro* ortamda 125 $\mu\text{g/mL}$ MİK değerinde inhibe edebildiğini gözlemlemişlerdir. Deneysel *in vivo* modelinde de, ekstrenin mide koruyucu ve antiülser etkilerinin olduğunu göstermişlerdir.

Larrea divaricata Cav. (*Zygophyllaceae*)'dan edilen sulu ekstrelerin, geleneksel ilaçlara yüksek derecede dirençli olan suşlara karşı anti *H. pylori* etkisinin olduğu literatürde belirlenmiştir [160]. Çalışmada tümü klaritromisine karşı ve dördü metronidazole karşı dirençli bir standart suş (ATCC) ve 6 klinik kökenli suş kullanılmış ve bitki ekstresi tüm suşlara karşı aktivite göstermiştir.

Yemeklerde kullanılan ve standart (ATCC) ve mide ülserli hastaların mide biopsilerinden elde edilen klinik kaynakları içeren *H. pylori* suşlarına karşı profilaktik amaçlarla kullanılan Çin mantarlarından elde edilen 14 etanol ekstresinin aktivitesi Shang ve arkadaşları tarafından değerlendirilmiştir [161]. Tüm ekstreler çalışmada kullanılan tüm suşlara karşı etki göstermiştir. Ayrıca, bu amaçla yapılan özgül testlerde *H. pylori* 'ye karşı antikörlerin varlığı da gösterilmiştir.

Ayrıca, Çizelge 2.8'de [152] terapötik potansiyeli olan yeni bileşiklerin araştırılmasında uçucu yağların kullanımı gibi, patojenik ve fırsatçı mikroorganizmalar tarafından oluşturulan hastalıkların tedavisinde uçucu yağların kullanımını araştıran önemli çalışmalar verilmiştir.

Çizelge 2.8. Bazı uçucu yağların anti *H. pylori* aktiviteleri

Bilimsel Ad	Aile	Analiz Tipi
<i>Allium sativum</i> L.	Liliaceae	<i>In vitro</i>
<i>Nepeta camphorata</i> L.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Nepeta argolica</i> ssp. <i>dirphyia</i>	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf.	Poaceae	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>
<i>Cupressus sempervirens</i> L.	Cupressaceae	<i>In vitro</i>
<i>Juniperus communis</i> L.	Cupressaceae	<i>In vitro</i>
<i>Melaleuca alternifolia</i> , Chee	Myrtaceae	<i>In vitro</i>
<i>Aloysia citrodora</i> Paláu	Verbenaceae	<i>In vitro</i>
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Mentha piperita</i> L.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Origanum marjorana</i> L.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Eucalyptus globulus</i> Labil	Myrtaceae	<i>In vitro</i>
<i>Ravensara aromatica</i> Sonnerat	Lauraceae	<i>In vitro</i>
<i>Citrus limonum</i> Risso	Rutaceae	<i>In vitro</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Lavandula latifolia</i> Medik.	Lamiaceae	<i>In vitro</i>
<i>Myrtus communis</i> L.	Myrtaceae	<i>In vitro</i>
Citrus lemon	Rutaceae	<i>In vitro</i>

Uçucu yağlar ve kokular farklı bitki organlarında bulunan aromatik bileşiklerdir. Bunlar aynı zamanda, oda ısısında hava ile temas ettiklerinde yüksek oranda buharlaşmalarından dolayı uçucu ya da eterik yağlar olarak adlandırılırlar. Bu özellik bitkilere tozlaştırıcıların ilgisinin çekilmesi ve böceklerle otobur hayvanların uzak tutulması için ciddi bir koku yaymaktadır [162]. Bu bileşikler tıp alanında, patojenik ve fırsatçı mikroorganizmalara karşı ilaç aktivitesi bakımından son derece önemli antifungal ve antibakteriyel etki göstermeleri nedeniyle kullanım alanı bulmaktadır.

Geçmiş yıllarda bu enfeksiyon tiplerinin tedavisinde ortaya çıkan sorunların giderilmesinde yeni ilaç opsiyonlarının geliştirilme gereksinimi sonucu, esansiyel yağların *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel profilini aydınlatmak amacıyla çalışmalar geliştirilmiştir. Bu sorunların başında klinik uygulamada en sık kullanılan terapötik ajan olan klaritromisin gibi standart tedavi ilaçlarına karşı giderek artan dirençli suşların ortaya çıkması ve % 100 güvenle uygulanacak ideal bir ilaç rejiminin olmaması gelmektedir.

Uçucu sarımsak yağının anti *H. pylori* potansiyeli ile ilgili bilgi dağarcığını genişletmek için, Otha ve arkadaşları [163], ham petrolden izole edilen bileşikleri test etmişler ve Kalputzakis ve arkadaşları [164], *Lamiaceae* ailesine ait, *Nepeta* genus'undan *Nepeta camphorata* L. ve *Nepeta argolica* ssp. dirphya'nın erişkin ve çocuklardan alınan biopsilerden ekstrakte edilen klinik *H. pylori* suşları üzerine antibakteriyel etkisi olduğunu göstermişlerdir. Bu iki türün esansiyel yağlarından elde edilen profilin uygun olduğu ve MİK değerlerinin *N. camphorata* ve *N. argolica* ssp. dirphya için sırayla 128 ve 64 µg/mL olduğu rapor edilmiştir.

Sicilya limonunun (*Citrus lemon* Burm. *Rutaceae*) esansiyel yağı gastrointestinal hastalıklar için ümit verici bir ürün olarak görülmektedir [165]. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal potansiyeli Rozza ve arkadaşları tarafından araştırılmış [166] ve MİK değeri 125 µg/mL olarak saptanmıştır. Araştırmacılar ayrıca yağın içerisindeki bileşikleri tanımlamak için fitokimyasal bir analiz de yapmışlardır. Analiz sonucu yaklaşık 17 bileşik saptanmış ve bunların 13 tanesi gaz kromatografisi ile ayırt edilmiştir. Çalışmada, esansiyel yağın temel bileşeni olarak toplam ürünün % 70,75'ine eşdeğer olan monoterpene limonene'i karakterize edilmiştir. Ayrıca % 13,19 oranında da β-pinene varlığını göstermişlerdir. Bu iki temel bileşiğin antimikrobiyal profilleri çalışıldığında limonen ve β-pinene için sırasıyla 75 µg/mL ve 500 µg/mL MİK değerleri elde edilmiştir. Bu bulgular sonuç olarak limonene'in anti *H. pylori* aktiviteden sorumlu temel bileşik olduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamızda, bitkisel tıpta bilinen çok sayıda faydalı etkilerinin yanı sıra mide rahatsızlıkları ve diğer gastrointestinal sistem kaynaklı semptomları iyileştirici etkileri ile bilinen ve literatürde *H. pylori* üzerinde yeterli çalışması bulunmayan bitkisel yağların (*Anemone* sp., *Anthemis nobilis*, *Citrus limonium*, *Citrus sinensis*, *Cocos nucifera*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Lavandula angustifolia*, *Linum usitatissimum*, *Ricinus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Vitis vinifera*, *Thymus vulgaris*) etkileri araştırılmıştır. Bu bitkisel yağların literatürde yer alan ve çeşitli bakteriler üzerinde yapılmış bazı çalışmalarını aşağıda özetlenmiştir.

Anthemis nobilis'in anti-inflamatuar, bakteriyostatik ve antimikrobiyal özellikleri olduğu bilinmektedir. Kazemian ve arkadaşları [167], *A. nobilis*'in aynı zamanda yara enfeksiyonlarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının biofilm oluşturmasını efektif

olarak inhibe ettiğini ve bu yolla alternatif bir antimikrobiyal ajan olma potansiyeli olduğunu göstermişlerdir. Liu Y ve arkadaşları [168], *Citrus limonium* yağı'nın primer oral karyogenik bakteri *Streptococcus mutans*'ın çoğalması ve aderansı üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar *Citrus limonium* yağının *S. mutans*'ın cam ve salya kaplı emaye yüzeylerde çoğalma ve aderansını etkin şekilde inhibe ettiği sonucuna varmışlardır. Bir *in vitro* çalışmada, Shetty ve arkadaşları [169], *Citrus sinensis*'in soyulmuş kabuklarının ekstresinin, *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus acidophilus* gibi diş çürüğü patojenlerine karşı etkili olduğunu ve terapötik potansiyeli olan bileşikler içerdiğini göstermişlerdir. Saf hindistan cevizi yağı (*Cocos nucifera*) ve onun orta-zincirli yağ asitlerinin antimikrobiyal etkileri, Shilling ve arkadaşları [170], tarafından *Clostridium difficile* üzerinde gösterilmiştir. Khonkarn ve arkadaşları [171], *Cocos nucifera*'nın hekzan çözücüsü olan HCP'nin normal hücre hatlarına (PBMCs) hiçbir antiproliferatif etki göstermezken, KB tümör hücre dizisi üzerine potansiyel antiproliferatif etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada, Mota ve arkadaşları [172], *Eucalyptus globulus* esansiyel yağının, *Staphylococcus aureus* üzerine klorheksidin'den daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini ve *Escherichia coli* ile *Proteus vulgaris* gibi gram-negatif bakteriler ve *Candida albicans* üzerinde klorheksidine benzer antimikrobiyal etkisi olduğunu belirlemişlerdir. Cabral ve arkadaşları [173], *Juniperus communis* subsp. alpina iğnelerinden türetilen esansiyel yağların özellikle *Mikrosporum canis* and *Trichophyton rubrum* gibi dermatofit suşları üzerine yüksek düzeyde antifungal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Behmatesh ve arkadaşları ise [174], *Lavandula angustifolia*'nın antibakteriyel ve antifungal etkilerinin yanı sıra Hodgkin lenfoma hücreleri üzerinde antiproliferatif etkileri olduğunu tespit etmişlerdir. Abdelillah ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada [175], *Linum usitatissimum* L. tohumu yağlarından izole edilen yağ asidi metil esterleri (FAME'ler)'nin temel fraksiyonun antifungal aktivitesi araştırılmış ve FAME'lerin özellikle *Aspergillus flavus* üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Zarai ve arkadaşları [176], *Ricinus communis* yapraklarından elde edilen esansiyel yağın antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlar ve yağın özellikle *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterobacter cloacae* üzerine kuvvetli antimikrobiyal etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda yağın HeLa hücre dizileri üzerine kuvvetli sitotoksik etkisi olduğunu da rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada Hussain AI ve arkadaşları da [177], *Rosmarinus officinalis* esansiyel yağının özellikle *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif bakteriler üzerine antiproliferatif, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar ayrıca, *Rosmarinus officinalis*'in insan meme

kanseri (MCF-7) ve fibroblast hücre hatları (NIH-3T3) üzerine antiproliferatif etkileri yanında antioksidan etkisi de olduğunu göstermişlerdir. Üzüm çekirdeğinden (*Vitis vinifera*) elde edilen proantosiyanidinlerin anti-inflamatuar etkilerini Li WG ve arkadaşları araştırmışlardır [178]. Araştırmacılar üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidinlerin, sıçanlar ve farelerde oluşturulan deneysel inflamasyon üzerine oksijensiz radikal açığa çıkması, anti-lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar sitokin oluşumunun inhibisyonu yoluyla anti-inflamatuar etkiler gösterdiğini rapor etmişlerdir. *Thymus vulgaris*'in antimikrobiyal aktivitesi Boruga ve arkadaşları [179], tarafından değerlendirilmiş ve araştırmacılar esansiyel yağın *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* gibi çok sayıda bakteri üzerine kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada, Abaza ve arkadaşları [180], *Thymus vulgaris*'den saflaştırılan bir doğal flavanon olan naringenin'in insan meme ve kolorektal kanseri üzerine çoğalmayı inhibe edici ve kemosenitizan etkilerini rapor etmişler ve naringenin'in bazı insan kanserlerinde ümit verici bir kimyasal koruyucu ve/veya kemoterapi adayı olduğu sonucuna varmışlardır.

2.15. Çalışmada Yağları Kullanılan Bitkiler

2.15.1. *Anemone sp.* (anemon)

Anemone sp., İngiltere ve İskoçya başta olmak üzere; Japonya, Brezilya gibi ortalama sıcaklık değerlerine ve yağışa sahip pek çok ülkede sanayi amaçlı yetiştirilen bir bitkidir. Ülkemizde ise özellikle İzmir, Aydın ve Antalya bölgelerinde doğal olarak yetişmektedir [181].

Ranunculaceae familyasına ait olup (Çizelge 2.9), renkli çiçeklere sahip olan otsu bitkilerdir. Çiçekleri birçok eksene göre simetrik dizilime sahiptir. Çiçeklerde çanak yapraklar 4-5 adet veya daha fazla sayıda ve taç yapraklar gibi renklidir. Ancak çiçeğin taç yaprakları yoktur (Resim 2.1). Bitkinin kökü oldukça kuvvetli ve kazık veya rizom tipindedir. Genellikle kuzey yarım kürede, ılıman ve serin iklime sahip bölgelerde, dağlık alanlarda gözlenen yaklaşık 60 kadar türü bulunmaktadır. Ülkemizde doğal olarak *Anemone blanda* yetişmektedir.

Çizelge 2.9. *Anemone sp.* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Ranunculales</i>
Familya	<i>Ranunculaceae</i>
Cins	<i>Anemone sp.</i>

Anemone, Yunanca ruh, canlılık anlamlarında kullanılır aynı zamanda tazelik ve gençlik anlamına da gelmektedir. Mavi anemon çiçeği, gövdeli yaprağa sahiptir ve çiçeklerinin ortasında çiçek özü yer almaktadır. Uçucu yağı, yapraklarında ve çiçek özünde bulunmaktadır. Mavi anemon çiçeğinde uçucu özelliği olan 103 farklı aktif madde mevcuttur. Bu nedenle, kendi familyasındaki tüm çiçekli bitkiler gibi aromatik bir kokuya sahiptir. Uçucu yağının bilinen en belirgin özelliği ciltteki elastikiyet kaybının önlenmesinde önemli rol almasıdır [181].

Resim 2.1. *Anemone sp.*

2.15.2. *Anthemis nobilis* (roma papatyası)

Anthemis nobilis, *Asteraceae* ailesine ait olup (Çizelge 2.10), Avrupa ve batı Asya'da doğal olarak yetişen yıllık otsu bir bitkidir (Resim 2.2). Britanya, Avustralya ve Amerika'da da yetiştirilmektedir.

Çizelge 2.10. *Anthemis nobilis* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Asterales</i>
Familya	<i>Asteraceae</i>
Cins	<i>Chamaemelum</i>
Tür	<i>C. nobile</i>

Papatya bitkisinin çok sayıda çeşidi bulunsa da, en popüler iki tanesi, her ikisi de *Compositae* ailesine mensub olan Roma papatyası (*Anthemis nobilis*) ve Alman

papatyasıdır (*Matricaria recutita*). Roma papatyasının antiemetik, antispazmodik ve sedatif özellikleri olduğuna inanılmaktadır [182].

Papatya, dünya da en yaygın kullanılan ve en iyi dokümente edilmiş tıbbi bitkilerden bir tanesidir. Papatyanın tıbbi bir bitki olarak kullanımı antik Yunan ve Roma dönemine dayanmaktadır. *Chamomile* (papatya) ismi, elmaya benzeyen kokusu nedeniyle yer elması anlamına gelen iki Yunanca kelimedenden gelmektedir. Antik Mısırlılar, bu bitkiyi güneş tanrısından gelen bir kutsal hediye olarak kabul etmişler ve bitkiyi ateş ve güneş çarpması bulgularını iyileştirmek için kullanmışlardır. Altıncı yüzyılda, papatya, uykusuzluk, sırt ağrısı, nevralsi, romatizma, cilt hastalıkları, hazımsızlık, gaz problemleri, baş ağrısı ve gut tedavisinde kullanılmıştır. Papatya, çok sayıda durumun tedavisinde dahili ve harici olarak kullanılmaktadır. Yaralar, ülserler, egzema, gut, cilt irritasyonu, nevralsi, siyatik, romatizmal ağrı, hemoroid, mastit ve bacak ülserleri gibi durumlarda harici olarak uygulanmaktadır. Ayrıca, pişikler, meme ucu yaraları, suçüçeği, zehirli sarmaşık ve konjonktivit tedavisinde ve saç kremi olarak da haricen kullanımı mevcuttur. Avrupalı onkologlar, Kamillosan® adında papatyalı bir ağız gargarasını kemoterapiye bağlı ağız ağrılarının tedavisinde kullanmaktadırlar. Alman E komisyonu, papatyanın cilt, müköz membranlar ve ano-genital alan inflamasyonları, oral kavite ve dişetini içeren bakteriyel cilt hastalıkları ve solunum sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde haricen kullanımını onaylamıştır [182,183].

Papatya bitkisinden elde edilen uçucu yağın temel bileşenleri terpenoidler, α -bisabolol, azulenler ve asetilen türevleridir. Papatya üzerinde yapılan çalışmalar genellikle bitkiden izole edilen bileşenlerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi ve tanımlanması üzerine odaklanmıştır. Yapılan çalışmalarda papatyadan izole edilen apigenin ve luteolin gibi flavonoidlerin antispazmotik, anti kanserojenik, anti inflamatuvar ve hafif sakinleştirici etki gösterebilecekleri rapor edilmiştir [184]. Zheng ve arkadaşları, papatyadan izole ettikleri apigeninin insan servikal karsinoma (HeLa) hücrelerinin gelişimini inhibe ettiğini ve bu hücrelerde apoptozise yol açtığını rapor etmişlerdir [185].



Resim 2.2. *Anthemis nobilis*

2.15.3. *Citrus limonium* (limon)

Limon bitkisi ağaç kavunu olarak bilinen *Citrus medica* bitkisi ile ekşi portakal olarak bilinen *Citrus aurantium* bitkilerinin çaprazlanması sonucu elde edilen doğal hibrit bir türdür. Limon bitkisinin ilk yetiştirilmeye başlandığı yerlerin Güney Hindistan, Myanmar ve Çin olduğu düşünülmektedir. M.S 1. yüzyılda Roma İmparatorluğu döneminde Güney İtalya'ya getirilen limon meyvelerinin ardından M.S 7.yüzyılda Irak ve Ortadoğu'da limon tarımı yapılmaya başlanmıştır. Onbir ve 16.yüzyılları arasındaki dönemlerde Avrupa'ya kadar getirilen limon, hemen hemen bütün Akdeniz havzasında yetiştirilir hale gelmiştir. Kristof Kolomb'un 1493 yılında Amerika'yı keşfetmesinin ardından pek çok narenciye türünün yanısıra limon da bu kıtaya getirilmiş ve başta Kaliforniya ve Florida eyaletleri olmak üzere Amerika kıtasının çoğunda yetiştirilmeye başlanmıştır [186].

Limon *Rutaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.11), ılıman iklime sahip bütün ülkelerde kültür şekilleri yetiştirilen, uçucu yağ ihtiva eden, 12 ay boyunca yeşil kalabilen ve yaprak dökmeyen ağacın meyvesidir (Resim 2.3).

Çizelge 2.11. *Citrus limonium* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Sapindales</i>
Familya	<i>Rutaceae</i>
Cins	<i>Citrus</i>
Tür	<i>C.limonium</i>

Limon bitkisi özellikle, içerdiği alkaloidlerin antikanser aktiviteleri ve farklı bölgelerinden (yapraklar, kök ve çiçek gibi) elde edilen ham ekstralarının klinik olarak önemli bakteriyel suşlara karşı antibakteriyel potansiyeli olduğunun rapor edilmiş olması nedeniyle yetiştirilmektedir [187]. Limon flavonoidlerinin antibakteriyel, antifungal, antidiyabetik, antikanser ve antiviral olmak üzere çok geniş spektrumlu biyolojik aktivitesi

bulunmaktadır [188,189]. Flavonoidler, direk antioksidan ve serbest radikal toplayıcı olarak fonksiyon görebilir ve enzim aktivitelerini düzenleyici ve hücre çoğalmasını inhibe edici kapasiteye sahiptirler [190]. Bitkilerde, bakteriler, funguslar ve virüsler gibi invaziv patojenlere karşı defansif bir rol oynadıkları görülmektedir [191]. Flavonoidler bitkilerde genellikle glikozile formda bulunmaktadır ve biyoyararlanımlarını belirlemede şeker içerikleri önemli bir faktördür. Merkezi sinir sistemi hastalıklarını en aza indirmek için kabukları, çiçekleri ve acı portakal yapraklarının (*Citrus aurantium L.*) kullanımı popülerdir [192]. Limon meyvesinin kabuğu, flavonoid glikozidler, kumarinler ve uçucu yağlar açısından zengin bir kaynaktır. Pek çok polimetoksile flavon'un, diğer bitkilerde nadir olarak bulunan çok sayıda önemli biyoaktivitesi vardır. Buna ilaveten limon meyvesinin lifleri de, en önemlisi C vitamini (askorbik asit) olmak üzere polifenoller içerir ve iskorbit hastalığının sebebi olan C vitamini eksikliğini tedavi eder [193].



Resim 2.3. *Citrus limonium*

2.15.4. *Citrus sinensis* (portakal)

Citrus sinensis, *Rutaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.12), Nijerya ve çok sayıda tropikal ve subtropikal bölgede yaygın olarak yetiştirilen bir bitkidir [194]. Tatlı portakal (*Citrus sinensis*) ya da yaygın ismiyle portakal (Resim 2.4), bu ailenin bir üyesidir ve özellikle C vitamini olmak üzere temel bir vitamin kaynağıdır, yeterli miktarda folasin, kalsiyum, potasyum, tiamin, niasin ve magnezyum içermektedir.

Çizelge 2.12. *Citrus sinensis* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Sapindales</i>
Familya	<i>Rutaceae</i>
Cins	<i>Citrus</i>
Tür	<i>C.sinensis</i>

Güney Çin'den köken alan ve uzun yılları orada yetiştirilen bitki, bugün tüm dünya da tropikal, yarı tropikal ve bazı ılıman iklimli yerlerde ticari olarak yetiştirilmektedir ve tüm dünya da en yaygın olarak dikilen bitki ağacı durumundadır [195].

Citrus meyveleri önemli fitokimyasal besleyicilerin temel kaynağıdır ve uzun zamandır sağlıklı besleyici ve antioksidan özellikleri nedeniyle değer görmektedir. Bilimsel olarak portakalın vitamin ve minerallerden zengin olduğu ve sağlık açısından çok sayıda faydası olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, günümüzde citrus meyvelerinde bulunan fitokimyasal antioksidanlar, çözünür ve çözülmez diyetel lifler gibi diğer biyolojik olarak aktif, besin olmayan bileşiklerin, kanser, artrit gibi çok sayıda kronik hastalıklar, obezite ve koroner kalp hastalıkları gibi durumların riskini azalttığı bilinmektedir [196].

Citrus flavonoidleri, inflamasyonda görev alan endotel hücreleri ve özelleşmiş hücrelerin aktivasyonundan sorumlu olan biyolojik mediatörlerin oluşumunu kontrol eden regülatör enzimlerin (protein kinaz C, fosfodiesteraz, fosfolipaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz) varlığı vasıtasıyla anti-inflamatuvar aktivite gösteren bileşikler içerirler [197].

Citrus flavonoidleri, seçici sitotoksiste, antiproliferatif etkiler ve apoptoz yoluyla kanser oluşumunu engellemektedir [198]. Flavonoidler antimutajeniktir ve böylelikle ultraviyole ışığı absorbe etme yetenekleri ile DNA'yı hasardan korurlar [199]. DNA'ya yakın bölgede oluştuklarında mutasyona yol açan serbest radikalleri nötralize ederler. Bu durum, c-ray ile radyasyona maruz bırakılan fare vücutlarında gösterilmiştir [200].



Resim 2.4. *Citrus cinensis*

2.15.5. *Cocos nucifera* (hindistan cevizi)

Cocos nucifera, *Arecaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.13), ağaçları pürüzsüz, sütunsu, açık gri-kahverengi gövdeli, göğüs yüksekliğinde ortalama çapı 30-40 cm olan ve tepesinde terminal bir yaprak tacı bulunan ağaçlardır (Resim 2.5). Uzun seleksiyonları 24-

30 metreye ulaşabilirken; cüce seleksiyonları da mevcuttur. Gövde, tabanında ince ve hafifçe şişkindir, genelde diktir ancak eğimli ya da kavisli olabilir. Yetiştığı tropik ve subtropik bölgelerin kıyı kesimlerinde, sıcak ve nemli iklime, alüvyonlu ya da verimli toprağa ihtiyaç duyan, özellikle deniz kenarında büyüyen ancak iklim koşulları ve toprak elverişli ise oldukça iç kesimlerde de büyüeyebilen bir bitkidir. Kayalık, kırmızı killi ve durgun topraklar bitkinin yetişmesi için uygun değildir. Esas olarak kırılmış temel gıda maddesi, ağaç ve el işleri kaynağı ve çok sayıda diğer kullanım alanlarının yanı sıra tropik ve subtropik bölgelerde dünyanın en faydalı bitkisi ve tıbbi bir bitki olarak görülmektedir. Tropik bölgelerde çok yaygın olarak bulunur ve bölgenin yerlilerinin hayatları ile iç içedir. Esquenazi ve arkadaşları [201], çalışmalarında Kuzeydoğu Brezilya'nın geleneksel tıbbında, hindistancevizi kabuklarının diyare ve artrit tedavisinde kullanıldığını belirtmişlerdir.

Çizelge 2.13. *Cocos nucifera* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Angiosperms</i>
Takım	<i>Arecales</i>
Familiya	<i>Areaceae</i>
Cins	<i>Cocos</i>
Tür	<i>C.nucifera</i>

Günümüzde hindistancevizi ağacı meyvesinden elde edilen hindistancevizi yağı, esas olarak gelişmiş ülkelere yiyecek dışı kullanım amacıyla gönderilmektedir ancak üretici ülkelerde geleneksel kullanımlar için olan önemini korumaktadır. Hindistancevizi yağının antimikrobiyal, antiviral ve antiprotzoal aktivitelere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Her ne kadar *C. nucifera* kabuğunun antibakteriyel potansiyel daha önce rapor edilmişse de bu çalışmalar yeterince ayrıntılı değildir ve çok az sayıda bakteri suşunu içermektedir [201,202]. Örneğin, Esquenazi ve arkadaşları, patojenik olmasına rağmen diyareik bir patojen olmadığı bilinen yalnızca bir bakteri türünü (*Staphylococcus aureus*) çalışmalarında kullanmışlardır. Benzer şekilde Srinivas ve arkadaşları [202], yalnızca 5 bakteri türü ile araştırma yapmışlardır. *C. nucifera* kabuğunun antibakteriyel potansiyelini, referans, çevresel ve klinik suşları içeren daha geniş bakteri türleri üzerinde değerlendirecek daha detaylı araştırmalar gerekmektedir.



Resim 2.5. *Cocos nucifera*

2.15.6. *Eucalyptus globulus* (okaliptüs)

Eucalyptus globulus, *Myrtaceae* familyasına ait olan bir bitkidir (Çizelge 2.14). Avustralya'nın bitki florasında türleri yaygın olarak görülmektedir. Çoğu Avustralya'ya özgü olan, 600'den fazla türü bulunmaktadır. Bazı türlerine de Endonezya ve Yeni Gine'de rastlanmaktadır. Kıtanın hemen hemen tüm bölgelerinde bulunan okaliptüs, Avustralya'nın her türlü iklim koşullarına adapte olmuş durumdadır. Boyu 100 metreye kadar ulaşabilen okaliptüs, dünya daki en uzun ağaçlar arasında yer almaktadır (Resim 2.6). Diğer ağaç türlerinden farklı olarak, uzun ve iri gövdesi sayesinde yetişkin bir okaliptüs ağacı bünyesinde 200 ile 1000 litre arasında su bulundurabilmektedir. Bu özelliği ile okaliptüs bataklık alanlara dikilerek bu bölgelerin kurutulmasını sağlamaktadır [203].

Çizelge 2.14. *Eucalyptus globulus* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Angiosperms</i>
Takım	<i>Myrtales</i>
Familya	<i>Myrtaceae</i>
Cins	<i>Eucalyptus</i>
Tür	<i>E. globulus</i>

Okaliptüs esansının, *Vibrio cholerae*, *Aspergillus flavus* ve *Staphylococcus aureus* gibi bazı bakteriler üzerine antimikrobiyal aktivitesi mevcuttur. Okaliptüsün yüksek konsantrasyonda 2 ya da 3 temel bileşeni mevcuttur. Temel bileşenleri, terpenler ve terpenoidler ile aromatik ve alifatik bileşenlerdir. Monoterpenler, esansiyel yağların % 90'ını oluşturan, en çok temsil edilen moleküllerdir ve çok farklı yapılar da bulunmaktadır [188]. Okaliptüs yaprakları, yara iyileşmesinde, fungal enfeksiyonlarda, çıbanlarda ve gastrointestinal bozukluklarda kullanılmaktadır [204]. Geleneksel olarak *Eucalyptus* spp. esansiyel yağı, solunum yolu hastalıkları ile faranjit, bronşit ve sinüzit gibi enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Yakın zamanda doğal tıbbı olan bilimsel ilgi giderek artmaktadır. Çalışmalar, okaliptüs yağında bulunan myrtaceous'un antibakteriyel

ve antiviral aktivitesini göstermiştir [205]. Okaliptüsün antimikrobiyal aktivite gösteren çok sayıda bileşeni mevcuttur. Bitki ekstralarının antibakteriyel etkilerini araştıran çok sayıda çalışma olmasına rağmen okaliptüs ekstresinin antibakteriyel etkisini araştıran çalışmalar oldukça kısıtlıdır.



Resim 2.6. *Eucalyptus globulus*

2.15.7. *Juniperus communis* (ardıç)

Juniperus communis, *Cupressaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.15), yaprak dökmeyen bir çalı ya da küçük iğne yapraklı bir ağaç olarak görülür ve kuzey yarımkürede serin iklimlerde yaygın olarak bulunmaktadır (Resim 2.7). Toprak üzerinde bulunan bölgeleri, özellikle yaprakları ve ardıç meyveleri, karakteristik aromatik ve acı lezzeti olan esansiyel yağ açısından zengindir. Diüretik etkisi ve gastrointestinal özellikleri nedeniyle, adi ardıç bitkisi yüzyıllardır tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Ardıç yağı, farmasötik, besin ve kozmetik endüstrilerinde ve aynı zamanda parfüm yapımında kullanılmaktadır. Bazı içecekler (cin gibi) fermente ardıç meyvelerinin distilasyonu yoluyla üretilmektedir.

Çizelge 2.15. *Juniperus communis* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Pinopsida</i>
Takım	<i>Pinales</i>
Familya	<i>Cupressaceae</i>
Cins	<i>Juniperus</i>
Tür	<i>J. communis</i>

Ardıç meyveleri ve yapraklarının esansiyel yağ bileşimini rapor eden çok sayıda çalışma mevcuttur. Bitkinin kökenine göre yağ bileşeni önemli ölçüde değişiklik gösterse de esansiyel yağları sıklıkla α -pinene, sabinene and myrcene ve daha sonra trans (E)-caryophyllene, muurolene, germacrene D ve B ile humulene içerir [206-211].

Ardıç meyvelerinin esansiyel yağlarının *in vitro* antimikrobiyal (antibakteriyel ve antifungal) aktivitesi çalışılmış ve sonuçlar kuvvetli ya da orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [207]. Yapraklardan elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal değerlendirilmesinde test edilen çok sayıda mikrobiyal suşa karşı ya çok az aktivitesi olduğu ya da hiç aktivitesinin olmadığı gösterilmiştir [208].



Resim 2.7. *Juniperus communis*

2.15.8. *Lavandula angustifolia* (lavanta)

Lavandula angustifolia, Akdeniz bölgesinde yaygın olarak bulunan, *Lamiaceae* ailesine mensup bir çalıdır (Çizelge 2.16). Yetiştığı temel ülkeler, Bulgaristan, Fransa, Fas'ın bazı küçük bölgeleri, eski Yugoslav cumhuriyetleri, Macaristan, İtalya, Rusya, İspanya, Romanya, Ukranya ve Türkiye'dir [212].

Çizelge 2.16. *Lavandula angustifolia* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Lamiales</i>
Familya	<i>Lamiaceae</i>
Cins	<i>Lavandula</i>
Tür	<i>L. angustifolia</i>

Tıbbi lavanta, gerçek lavanta ya da yaygın lavanta (*Lavandula angustifolia*, *L. officinalis*, *L. vera*) olarak da bilinen lavanta, yaprak dökmeyen uzun ömürlü bir bitkidir. Lavanta bitkisi 40-60 cm uzunluğuna kadar erişir ve kompakt, düzenli kümeler oluşturur. Kökün aşağı kısımları odunsu iken, üst kısımları yeşildir (Resim 2.8).

Lavanta, esansiyel yağlar, antosiyaninler, fitosteroller, şekerler, mineraller, kumarik asit, glikolik asit, valerik asit, ursolik asit, herniarin, kumarin ve taninler içerir. Lavantadan elde edilen en değerli madde, kaliksin yüzeyinde, ince tüylerin aralarındaki oluklarda yerleşik yağ bezlerinde bulunan esansiyel yağdır. Lavantanın esansiyel yağı, aromaterapi ve

masajda sıklıkla kullanılır. Temel klinik faydaları merkezi sinir sistemi üzerinedir. Hayvanlar ve insanlarda yapılan çok sayıda çalışma, sedatif, anksiyolitik ve mod düzenleyici özellikleri olduğunu desteklemiştir. Lavanta yağının *in vitro* olarak bakteriler, funguslar ve bazı böcekler üzerine antimikrobiyal aktivitesi mevcuttur [213].

Parfüm endüstrisindeki popüler kullanımının yanında, lavantanın tıbbi kullanımının da uzun bir tarihçesi vardır. Lavantanın farklı çeşitleri tüm dünya da yetiştirilmektedir. En az 5 farklı türü tıbbi olarak kullanılmaktadır ve her bir türün farklı tıbbi özellikleri mevcuttur. Günümüzde lavantanın aromaterapide kullanımına karşı yeniden canlanan bir ilgi mevcuttur. Geleneksel Çin tıbbında, lavanta, infertilite, enfeksiyon, anksiyete ve ateş gibi çok sayıda durumun tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda uzun zamandır Arap tıbbında karın ağrısı ve böbrek problemlerinin tedavisinde de kullanılmaktadır. Farklı lavanta türlerinin, içeriğindeki özgül kimyasal bileşenlere bağlı olarak farklı antibakteriyel etkileri mevcuttur [214]. *L. angustifolia* esansiyel yağının metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve vancomisine dirençli *Enterococcus aecium*'a karşı bakteriyostatik ve bakterisidal aktivitesi mevcuttur [215]. Başka bir çalışmada, *L. angustifolia* esansiyel yağı *B. Megaterium*'un çoğalmasını kontrol kültürlerine göre % 50 oranında inhibe ederken, aynı zamanda *P. Aeruginosa* çoğalmasını % 75 inhibe etmiş ve *S. aureus* ve *M. Lysodeikticus* çoğalmasını ise geciktirmiştir. Bir çalışmada *L. angustifolia* yağı, filamentöz fungusların sporulasyonunu geciktirmiş ve *T. mentagrophytes* çoğalmasını tümüyle inhibe etmiştir [216]. Benzer şekilde, *L. angustifolia* esansiyel yağı üç farklı yüzeyel insan fungal patojeninin ikisine karşı fungistatik aktivite ve bir tanesine karşı fungisidal aktivite göstermiş ve bu aktivitesine çok farklı bileşikler (p-cymene, limonene, linalool, linalyl acetate, alpha-pinene, beta-pinene, 1,8-cineole ve camphor) katkıda bulunmuştur [217].



Resim 2.8. *Lavandula angustifolia*

2.15.9. *Linum usitatissimum* (keten tohumu)

Linum usitatissimum, *Linaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.17), haziran ağustos ayları arasında ipek gibi, mavimsi veya sarı renkli çiçekler açan bir bitkidir (Resim 2.9). Tohumu ve lifi için yetiştirilen bitkinin doğal ve kültür formları bulunmaktadır. *Linum* cinsi dünya üzerinde 200 den fazla türe sahiptir. Bu türler genellikle Akdeniz ülkeleri, Balkanlar ve Türkiye'de yetişmektedir. Bu türler içinde *Linum usitatissimum* bilinen en eski tür olup, lifleri ve tohumundan elde edilen yağ nedeniyle Ülkemizde ve dünya da birçok ülkede bitkinin kültürü yapılmaktadır. Hem yiyecek hem de endüstri bakımından önemli olan bu yağın bileşiminde yüksek oranda linoleik asit bulunmaktadır [218,219].

Çizelge 2.17. *Linum usitatissimum* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Malpighiales</i>
Familya	<i>Linaceae</i>
Cins	<i>Linum</i>
Tür	<i>L. usitatissimum</i>

Keten tohumu (*L. usitatissimum*) a-linolenik asit ve lif açısından zengin olmasının yanında, başlıca bileşen olarak lignanlar, özellikle de sekoizolarisirezinol diglukozit taşımaktadır. Keten tohumunda bulunan lignanlar, memeli lignanları olarak bilinen ve antikarsinojenik aktiviteye sahip enterodiol ve enterolakton bileşiklerinin öncülleridir. Yiyecek olarak alınan keten tohumu içindeki lignanlar insanlarda barsak florası tarafından enterodiol ve enterolaktone dönüştürülmektedir. Keten tohumu diğer besleyici özelliklerinin yanında zengin lignan içeriğinden dolayı antikarsinojen etkiye sahiptir [220,221]. *Linum usitatissimum*'un kloroform ve hekzan ile hazırlanan ekstratlarının *S. pneumonia*'ya karşı çok kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Keten yağının insanlarda kolesterolü azalttığı, göğüs ve kalınbağırsak kanserini önlediği ve alerjilerin önlenmesinde de etkili olduğu belirtilmektedir [222]. Ketenin içerdiği mineraller, özellikle potasyum vücutta kanın akışını düzenlemektedir [223]. Keten yağının sıtma parazitine karşı E vitamini eksikliğini giderdiği anlaşılmıştır [224]. Diğer taraftan linolenik asitin anti-inflamatuar özelliği (ateş önleyici ve iltihap önleyici) ve allerjik olmaması sebebiyle de cerrahi pansuman olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir.



Resim 2.9. *Linum usitatissimum*

2.15.10. *Ricinus communis* (hintyağı)

Ricinus communis, *Euphorbiacea* familyasında yer alan (Çizelge 2.18), yüksek, tüysüz ve mat yeşil, tüm yıl yaşayan, bazen ağaçsı, hatta küçük bir ağaç gibi, 2-4 metre yüksekliğinde, tüm Hindistan'da bulunan, çoğunlukla yaban ya da boş alanlarda büyüyen ama aynı zamanda yağlı tohumlarından yetiştirilebilen bir bitkidir (Resim 2.10). Hintyağı otları, dere ve ırmak yatakları, alt topraklar ya da toprağın iyi drene olduğu ve etkili büyüme için yeterli besleyici maddeler ve nem içerdiği herhangi bir sıcak ortamda yaygın olarak bulunurlar.

Çizelge 2.18. *Ricinus communis* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Euphorbiales</i>
Familya	<i>Euphorbiaceae</i>
Cins	<i>Ricinus</i>
Tür	<i>Ricinus communis</i>

Her ne kadar tropik Doğu Afrika'nın Etiyopya bölgesinde doğal olarak bulunsa da, Hint yağı bitkisi tüm dünya da tropik ve ılıman iklimlerde yaygın olarak yetiştirilmiştir ve Amerika Birleşik Devletlerinin güneydoğusunda giderek daha fazla bulunan bir ot haline gelmiştir. Bitkinin kökleri, sapları ve yaprakları çok sayıda amino asit içerir. Çiçekleri apigenin, chlorogenin, rutin, coumarin ve hyperoside içerir. Hint yağı çok sayıda yağ asitinden oluşur. Temel olarak risinoleik asit ve az miktarda dihydroxystearik, linoleik, oleik, ve stearik asitleri içerir. Hint yağı, romatoid artrit, paralizi, epilepsi, rahim distansiyonu tedavisinde kullanılır ve yatıştırıcı, antidot, bakterisid, katartik, siyanogenetik, kusturucu, yumuşatıcı, insektisit, laktogog, larvisid, laksatif, zehir, purgatif, tonik ve solucan ilacı özelliklerine sahip olduğu kabul edilir [225].

Ricinus communis saplarının antikanser, antidiyabetik ve antiprotozoal aktivitesi mevcuttur [226]. Hint tıbbında bitkinin yaprağı, kökü ve tohum yağı, inflamasyon ve karaciğer bozukluklarının tedavisinde, hipoglisemik ve laksatif olarak kullanılmaktadır. İmmün yetmezlikli oral kanser vakalarının ikincil enfeksiyonları bakteriyel ve fungal türler sebebiyledir. *Ricinus communis*'in oral kanser tedavisi gören hastalarda enfeksiyondan korunma amacıyla immünsüpresan ilaçlar ile beraber kullanımı önemli sonuçlar ortaya koymuştur [227].

Bitkinin anti-tüberküloz aktivitesini değerlendirmek için proporsiyon metodu, NRA ve BacT/ALERT 3D sistemi kullanılmıştır. *M. tuberculosis* H37RV, *Ricinus communis* Linn.'in 150 µg/ml etanol ekstresine duyarlı bulunmuştur. *Ricinus communis*'in etanolik ekstresinin önemli anti-tüberküloz aktivitesi olduğu gösterilmiştir [228].



Resim 2.10. *Ricinus communis* bitkisi ve tohumu

2.15.11. *Rosmarinus officinalis* (biberiye)

Rosmarinus officinalis, *Lamiaceae* familyasına ait olup (Çizelge 2.19), 50-100 cm boylarında, çalı görünümünde, kış aylarında yapraklarını dökmeyen, çiçekleri soluk mavi renkli, çok yıllık bir bitkidir (Resim 2.11). Fransa'nın güney bölgesinden başlayarak, ülkemizi de içine alan ve Afrika'nın kuzeyinde Tunus ve Cezayir kıyılarında doğal olarak yayılım göstermektedir. Türkiye'de genellikle maki florası içinde doğal olarak yetişmektedir.

Çizelge 2.19. *Rosmarinus officinalis* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Lamiales</i>
Familya	<i>Lamiaceae</i>
Cins	<i>Rosmarinus</i>
Tür	<i>R. officinalis</i>

Biberiye tüm dünya da baharat ve tıbbi bir bitki olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Halk arasında, sindirim sistemi uyarıcı, safra arttırıcı, idrar söktürücü olarak ve yaraları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Biberiye, tüm doğal antioksidanlar içerisinde en yüksek antioksidan aktiviteye sahip baharatlardan biri olarak kabul görmektedir [229]. Biberiye esansiyel yağı aynı zamanda antibakteriyel, antifungal [230-232] ve antikanser ajan olarak kullanılmaktadır [233]. Ouattara ve arkadaşları [234], besinlerde bozulma yaratan bazı organizmalara karşı seçilmiş esansiyel yağların antibakteriyel aktivitelerini araştırmışlar ve tarçın, karanfil ve biberiyenin en aktif esansiyel yağlara sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer sonuçlar, havuç suyunda yetiştirilen *Bacillus cereus* suşlarına karşı biberiye esansiyel yağlarının antibakteriyel aktivitesini araştıran Valero ve Salmeron [235] tarafından da elde edilmiştir.

Biberiyeden, flavonlar, diterpenler, steroidler ve triterpenler gibi çok sayıda bileşik izole edilmiştir. Bunların içerisinde biberiye ekstraktlarının antioksidan aktivitesi temel olarak iki fenolik diterpene atfedilmiştir: karnosik asit ve karnosol [236]. Antimikrobiyal aktiviteden sorumlu temel bileşikler olarak ise α -pinene, bornyl acetate, camphor ve 1,8-cineole tanımlanmıştır [237].

Morena ve arkadaşları [238], biberiye bitkilerinin zengin fenolik bileşik kaynağı olduğunu ve hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Santoyo ve arkadaşları ise [239], *S. aureus*'un biberiye ekstraktlarına en duyarlı bakteri olduğunu göstermişlerdir.



Resim 2.11. *Rosmarinus officinalis*

2.15.12. *Vitis vinifera* (adi asma üzümü)

Vitis vinifera, Akdeniz bölgesi, merkez Avrupa, Güneydoğu Asya, Fas'dan Portekiz'e, Almanya'nın kuzeyinden güneyine ve İran'ın doğusundan batısına kadar doğal olarak yetişen bir vitis türüdür. *Vitis vinifera* Vitaceae familyasına ait olup (Çizelge 2.20), sarmal tırmanan dendritleri ve geniş yaprakları olan yaprak dökücü odunsu bir tırmanıcı bitkidir. Yaz aylarında küçük, solgun, yeşil çiçeklerini, yeşilden mor-siyaha değişen renklerde meyve demetleri takip eder (Resim 2.12) [240].

Üzüm, antik çağlardan beri biyolojik aktiviteleri nedeniyle “kocakarı” ilacı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin yaprakları, astrenjan ve hemostatik özellikleri nedeniyle diyare, kanama, variköz toplardamarlar, hemoroid, inflamatuvar bozukluklar, ağrı, hepatit ve serbest radikal ilişkili hastalıkların tedavisinde, aynı zamanda da Anadolu'da yüzyıllardır yara iyileşmesinde ve fronküllerin drenajında kullanılmaktadır. Yapraklarının suyu da göz banyosunda antiseptik olarak önerilmektedir. Buna ilaveten, son yıllarda üzüm bitkisinin yaprakları, antioksidan besin takviyelerinin formülasyonunda da kullanılmaktadır [241].

Çizelge 2.20. *Vitis vinifera* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Angiosperms</i>
Takım	<i>Vitales</i>
Familya	<i>Vitaceae</i>
Cins	<i>Vitis</i>
Tür	<i>V. vinifera</i>

Bitki üzerinde yapılan çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışma, *V. vinifera* yapraklarının hepatoprotektif, spazmolitik, hipoglisemik ve vazorelaksan etkiler gibi farklı biyolojik aktiviteler gösterdiğini ortaya koymuştur [242,243]. Eski kimyasal araştırmalar, *V. vinifera* yapraklarında organik asitler (malik, oksalik, fumarik, askorbik, sitrik ve tartarik asit), fenolik asitler, taninler, antosiyaninler, lipid, enzimler, karotenoidler, terpenler ve indirgen

ya da indirgen olmayan şekerlerin varlığını göstermiştir [244]. Bitkinin terapötik özelliklerinin çoğu fenolik bileşiklere atfedilebilir. Fenolik bileşikler, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler gibi farmakolojik etkileri nedeniyle fazlasıyla ilgi toplamıştır. Şarap, üzüm ve üzümde elde edilen yan ürünlerin antimikrobiyal aktiviteleri geniş şekilde araştırılmıştır [245,246]. *V. vinifera* 'nın üzüm çekirdeği ekstresinin gram pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilere olduğundan daha kuvvetli antibakteriyel aktivitesinin olduğu gösterilmiştir [247]. Siyah sofran üzümünün suyu, derisi ve tohum ekstraktlarının, *Listeria monocytogenes* çoğalmasını kuvvetle inhibe ettiği bulunmuştur [248]. Alkolsüz kırmızı ve beyaz şarap ekstraktlarının *Candida albicans*'a karşı, toplam fenolik içeriğine bağlı olarak orta derecede antifungal aktivitesi olduğu gösterilmiştir [249].



Resim 2.12. *Vitis vinifera* çekirdeği

2.15.13. *Thymus vulgaris* (kekik)

Thymus vulgaris, nane familyası *Lamiaceae*'dan çiçekli bir bitkidir (Çizelge 2.21). Uzun ömürlü, ince bir çalıdır ve yarı-yaprak dökmeyen, yatay ve yukarı doğru nadiren 40 cm yüksekliğe ulaşan toprak örtüsüne sahiptir (Resim 2.13). Kökleri yaşlandıkça odunlaşır.

Çizelge 2.21. *Thymus vulgaris* bilimsel sınıflandırılması

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	<i>Plantae</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Lamiales</i>
Familya	<i>Lamiaceae</i>
Cins	<i>Thymus</i>
Tür	<i>T. vulgaris</i>

Kekik antiseptik, antimikrobiyal, astrenjan (büzücü), antihelmintik, tıbbi ilaç, dezenfektan ve tonik olarak değerlendirilmiştir. Kekik, kancalı kurtlar, askarisler, gram pozitif ve gram negatif bakteriler, funguslar ve mayalar yanında *Candida albicans* gibi çeşitli intestinal enfeksiyonlar ve enfestasyonlarda inanılmayacak ölçüde faydalıdır. Aktif içeriği olan thymol, enterobakteriler ve kok bakterilere karşı aktiftir. Kekik ayrıca karaciğer

fonksiyonunu iyileştirebilir ve iştah açıcı olarak görev yapabilir. Kıkırdak tüp, bronş ve üriner enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Gargara olarak kullanıldığında, larenjit ve inflamasyonun tedavisinde faydalıdır. Thymol enterobakteriler ve kok bakterilere karşı aktiftir. *Thymus vulgaris* yağı monoterenlerin bir bileşimidir. Bu yağın en önemli bileşenleri, antioksidatif, antimikrobial, tıbbi ilaç, öksürük kesici, antispazmodik ve antibakteriyel etkileri bulunan doğal terpenoid thymol ve onun fenol kimyasal bileşeni carvacrol'dür [188,250,251]. Ivanovic ve arkadaşları [252], kekiğin ekstresi ve esansiyel yağının, *E. coli* ve *Salmonella* suşlarına karşı önemli derecede aktivitesi olduğunu rapor etmişlerdir. Kekiğin esansiyel yağının antifungal ilaçlara duyarlı ve dirençli mayalara karşı aktivitesi olduğu da bildirilmiştir [253].



Resim 2.13. *Thymus vulgaris*

2.16. Bitkisel Yağların Sitotoksik Etkilerinin İncelendiği Hücre Dizisi

Birçok sürekli hücre dizisi kültüre edildiğinde hücreye/dokuya özgü fonksiyonlarını kaybetmesinden dolayı *in vivo* yanıtlara benzer yanıtlar alınamamaktadır. Normal hücre soylarından farklı olarak kanser hücre soyları bu fonksiyonlarını koruyabilmektedir ve toksisite analizlerinin *in vitro* modellemelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda insan umbilikal ven endotel hücre dizisi; HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) kullanılmıştır [254-256].

Organizmanın pekçok bölgesinde bulunan kan damarlarından endotel hücresi elde edilebilmektedir. Aort endotel hücresi, beyin mikrovasküler damarlarından elde edilmiş endotel hücresi, glomerüler endotel hücresi, dermal mikrovasküler endotel hücresi, insan göbek kordonu veni endotel hücresi ve miyometriyum mikrovasküler endotel hücresi bunlara örnek olarak verilebilir. HUVEC, *in vivo* endotel tabakası için iyi bir modeldir. Endotel hücrelerinin temel özelliklerini taşır ve aynı zamanda doğumdan hemen sonra atılan bir dokudan elde edildiği için temin edilmesi kolay ve ekonomiktir. Büyük, dallanmalar yapmayan, yüzeyi geniş bir damar olması nedeniyle üzerinde kolaylıkla

çalışılmasına imkan sağlamaktadır. Sağlıklı endotel hücreleri, 6-8 gün içerisinde ekildikleri kültür kabının tüm yüzeyini kaplayacak kadar hızlı üremektedirler. Hücreler ekildikten sonra inkübasyon aşamasında proliferasyon olurken, ışık mikroskopunda morfolojileri incelendiğinde henüz birleşik yapıda olmayan ancak yüzeye yapışan endotel hücrelerinin ince, uzun sitoplazmik uzantılara sahip oldukları görülmektedir. Tüm yüzeyi kapladıklarında ise uzantılarının azaldığı, çoğunlukla poligonal bir şekil aldıkları ve hem buldukları yüzeye hem de birbirlerine bağlandıkları görülmektedir. Yuvarlak ya da oval, merkezi yerleşimli tek bir nükleus ve içinde bir veya birden fazla nükleolus gözlenmektedir. Nükleusun sınırları düzgündür ancak hücre sınırları nükleustaki kadar belirgin değildir ve bazı bölgelerde gözlenemeyebilir. Sitoplazmada vakuoller görülebilir ancak endotel hücrelerinin sağlıklı olduğunun göstergesi olarak bu vakuoller sınırlı sayıda olmalıdır [255-257]. Hücrelerin beslenmesi ve fonksiyonlarına devam etmesini sağlamak için kültür besiyerleri olarak endotel hücreleri için DMEM, RPMI-1640 gibi besiyerleri kullanılmaktadır. Endotel hücre kültüründe sıklıkla kullanılan serum FBS'dir. Hemen tüm kültürlerde olduğu gibi HUVEC'te de antibiyotik olarak penisilin-streptomisin, tampon çözelti olarak sodyum bikarbonat kullanılmaktadır. Bu kültür koşulları uygulandığında, HUVEC kültüründe endotel hücreleri 6-8 günde birleşip yüzeyi kaplamakta ve % 94'ün üzerinde bir canlılık oranıyla sağlıklı bir endotel hücre kültürü elde edilebilmektedir [258-260].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

- Spektrofotometre (BioTek Epoch Mikroplate Spectrophotometer)
- Santrifüj (Hitachi Himac CT6EL)
- Hücre kültürü kabini (ESCO Labculture Class II Type A2)
- İnkübatör (New Brunswick Galaxy 170S)
- Su banyosu (Mettler WNB7)
- Mikroskop (JuLi FL)
- Laminar Hava Akışlı Kabin (Chemocell LRCX-UV)
- İnkübatör (Nüve CO₂ inkübatör EC 160)
- Karıştırıcı İnkübatör
- Işık mikroskobu (Leica DM 500)
- Hassas terazi (Shimadzu AW 320)
- UV-spektrofotometre
- Vortex
- Manyetik karıştırıcı
- Isıtıcı Karıştırıcı
- Saf su cihazı
- Dondurucular (+4, -20, -80)
- Otoklav (Nüve OT 4060)
- Otomatik mikropipet (10, 100 ve 1000 µl)
- 1, 10, 100 ve 1000 µl 'lik Tek Kullanımlık Pipet Uçları
- Serolojik Pipet Tabancası
- Hücre kültür flaskları (25 cm²)
- Kriyotüpler
- 0,22 µm filtre

3.1.2. Çalışmada kullanılan kit ve kimyasallar

- Brucella Broth (ALBIMI), (Biolife, İtalya)
- Urea Agar Base, (Biolife, İtalya)
- Bacto™ Agar, ABD
- DMEM (Merck Millipore, Almanya)
- DMEM/F12 (Sigma Aldrich, Almanya)
- Phenol red içermeyen DMEM (Merck Millipore, Almanya)
- MTT-Based In Vitro Toxicology Assay Kit (Sigma Aldrich, Almanya)
- FBS (Pan Biotech, Almanya) - Penisilin-Streptomisin (Sigma Aldrich, Almanya)
- DMSO (Santa Cruz Biotechnology, ABD)
- Tyripsin-EDTA (Thermo Fisher Scientific, ABD)
- DPBS (Capricorn Scientific, Almanya)
- Amoxicillin (Amoxina 250 mg 80 ml süspansiyon, Mustafa Nevzat, Türkiye)

3.1.3. Çalışmada kullanılan *H. pylori* suşu

Çalışmamızda kullanılan *H. pylori* klinik izolatu Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Doku ve Hücre Kültürü Laboratuvarından temin edilmiştir. Çalışma yapılncaya kadar bakteri sıvı azot tankında kriyotüpler içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.1.4. Çalışmada kullanılan hücre dizisi

Çalışmamızda kullanılan insan umbilikal ven endotel; HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) hücre dizisi Yeditepe Üniversitesi Hastanesi doku Tipleme Laboratuvarından temin edilmiştir. Çalışma yapılncaya kadar hücreler sıvı azot tankında kriyotüpler içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.1.5. Çalışmada kullanılan bitkisel yağlar

Çalışmada kullanılan uçucu ve sabit yağlar Aksuvital Doğal Ürünler A.Ş.'den temin edilmiştir (Çizelge 3.1). Yağların menşei ve üretici bilgileri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan uçucu ve sabit yağlar

<u>Uçucu Yağlar</u>	<u>Sabit Yağlar</u>
<i>Anemone sp</i>	<i>Ricinus communis</i>
<i>Anthemis nobilis</i>	<i>Cocos nucifera</i>
<i>Citrus limonium</i>	<i>Linum usitatissimum</i>
<i>Citrus sinensis</i>	<i>Vitis vinifera</i>
<i>Eucalyptus globulus</i>	
<i>Juniperus communis</i>	
<i>Lavandula angustifolia</i>	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	
<i>Thymus vulgaris</i>	

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan uçucu ve sabit yağların menşei ve üreticileri

Ürün Adı	Bitkilerin Yetiştigi Ülke	Yağların Üretim Yeri
<i>Anemone sp.</i>	Hindistan	Çin
<i>Anthemis nobilis</i>	Fransa	Fransa
<i>Citrus limonium</i>	Fransa	Fransa
<i>Citrus sinensis</i>	İtalya	Fransa
<i>Cocos nucifera</i>	Filipinler	Türkiye
<i>Eucalyptus globulus</i>	Avustralya	Çin
<i>Juniperus communis</i>	Çin	Çin
<i>Lavandula angustifolia</i>	Fransa	Fransa
<i>Linum usitatissimum</i>	Türkiye	Türkiye
<i>Ricinus communis</i>	Malavi	Hindistan
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hindistan	Çin
<i>Vitis vinifera</i>	Türkiye	Türkiye
<i>Thymus vulgaris</i>	Türkiye	Türkiye

Aksuvital Doğal Ürünler A.Ş., uçucu yağları bitkilerin türüne göre hidrodistilasyon metodu ile yapraklardan ya da çiçeklerinden, sabit yağları ise, bitkilerin yağlı çekirdeklerinin soğuk baskı makinesinde sıkılması ile elde etmiştir. Bitkisel yağların kimyasal bileşenleri ise yine Aksuvital Doğal Ürünler A.Ş. tarafından gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC/MS) analizleri sonucunda belirlenmiştir. Bitkisel yağların GC/MS analizleri sonucunda belirlenen kimyasal bileşenleri Çizelge 3.3- 3.15'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. *Anemone sp.* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
2-propanol	30,88
1-propanol	18,01
1-propanol	17,82
1-propanol	6,01
BIS (1-Metil-2-Hidroksietil) Eter	5,92
Benzil Asetat	5,78
Octanal	4,83
Fenetil alkol	3,48
Alfa-terpinol	1,67
Linalol	1,62
Geraniol	0,97
7-asetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralin	0,58
Lili aldehid	0,56
7-okten-2-ol	0,39
Hekzametil-piranoindan	0,35
Alil heptanoat	0,32
1,3-dihidro-3,3-dimetil-5-metoksi-2H-indol-2-one	0,31
Naftalin	0,20
Gama-oktalakton	0,16
Benzenmatanol	0,16

Çizelge 3.4. *Anthemis nobilis* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Metil 1-Metil-d3-2-propenil eter	25,74
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	16,20
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	15,89
Oktanal	8,53
2-butanol	6,03
Benzil Asetat	5,70
1-propanol	5,15
Metil antranilat	3,87
Alfa-terpinol	3,06
Benzil benzoat	2,27
Linalol	1,81
Naftalin	1,77
Mirsen	1,19
Terpinolen	0,98
Fenetil alkol	0,78
Beta-terpinol	0,36
Benzen	0,27
Alfa-terpinen	0,20
Fenol	0,18

Çizelge 3.5. *Citrus limonium* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Limonen	41,71
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	16,20
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	15,89
Oktanal	8,53
2-butanol	6,03
Benzil Asetat	5,70
1-propanol	5,15
Metil antranilat	3,87
Alfa-terpinol	3,06
Benzil benzoat	2,27
Linalol	1,81
Naftalin	1,77
Mirsen	1,19
Terpinolen	0,98
Fenil alkol	0,78
Beta- terpinol	0,36
Benzen	0,27
Alfa-terpinen	0,20
Fenol	0,18

Çizelge 3.6. *Citrus sinensis* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Limonen	85,05
Mirsen	5,51
Alfa-pinen	1,53
Linalol	1,34
Sabinen	1,10
Sabinen	0,88
n-dekanal	0,85
Delta-3-karen	0,36
Alfa-terpinol	0,21
Sitral	0,21
Omega-pentadecalakton	0,17
Laurik aldehit	0,17
Sitronellal	0,17
Limonen oksit	0,16
Valensen	0,15
Germakren	0,15
Karvon	0,14
Z-sitral	0,13
Nonanal	0,13
2-propanol	0,13
1-dekanol	0,12
Alfa amorfen	0,11
P-menta-trans-2,8-dien-1-ol	0,11
6-okten-1-ol	0,11
Alfa kopaen	0,11
Gama terpinen	0,10
Beta sinensal	0,10
p-menta-E-2,8(9)-dien-1-ol	0,10
Trans-(+)-karveol	0,09
Delta-kadinen	0,09
Metilbenzoat	0,08
Beta-karyofilen	0,08
Sis-karveol	0,08
13-oktadekanal	0,07
Limonen glikol	0,07
Beta pinen	0,06

Çizelge 3.7. *Cocos nucifera* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
C 18:2 (omega 6)	33,34
C 18:1 (omega 9)	27,38
C 12:0	10,88
C 16:0	8,14
C 14:0	6,12
C 18:0	5,04
C 8:0	2,20
C 10:0	2,01
C 18:1 (omega 9)	1,95
C 22:0	1,31
C 18:1 (omega 9)	1,95
C 20:0	0,31
C 20:1 (omega 9)	0,20
C 6:0	0,19
C 16:1	0,17

Çizelge 3.8. *Eucalyptus globulus* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Okaliptol	30,13
BIS (1-Metil-2-hidroksietil) Eter	16,35
1-propanol	16,06
2-propanol	12,73
2-propanol	11,93
2-butanol	4,78
2-propanol	2,92
Gama terpinen	2,10
p-simen	1,57
Alfa pinen	0,43
Alfa fellandren	0,41
Mirsen	0,24
Beta pinen	0,11
3,7-dimetil-1,3,6-oktatrien; osimen	0,09
Alfa terpinen	0,08
Alfa terpinol	0,08

Çizelge 3.9. *Juniperus communis* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
İzobornil asetat	39,25
2-propanol	16,32
Dipropilen glikol	9,38
2-butanol	9,11
Okaliptol	8,11
Limonen	4,14
1-propanol	3,11
2-butanol	2,58
Alfa terpinol	2,28
Alfa terpinen	1,99
Benzil asetat	0,75
Gama terpinen	0,57
p-simen	0,55
Terpinolen	0,29
Bisiklo [2.2.1] heptan-2-ol	0,28
Bisiklo [2.2.1] heptan-2-ol	0,22
E-beta-terpinol	0,18
Alfa pinen	0,16
Beta terpinol	0,13
Mirsen	0,13
Metan	0,12
Alfa fellandren	0,11
1H-pirol-2-karboksaldehit	0,10
Kamfen	0,08
1-buten	0,03
Hekzanal	0,02
1-Dodekanamin	0,00

Çizelge 3.10. *Lavandula angustifolia* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Metan	37,96
2-propanol	29,14
Linalil asetat	10,66
Linalol	6,77
2-butanol	6,69
Dipropilen glikol	5,35
Limonen	1,26
Okaliptol	0,46
Bisiklo [2.2.1] heptan-2-one	0,44
Kamfen	0,37
Alfa terpinol	0,27
Terpinolen	0,18
Endo borneol	0,16
Tripropilen glikol 2	0,09
Gama terpinen	0,07
Alfa terpinen	0,07
p-simen	0,06

Çizelge 3.11. *Linum usitatissimum* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
C 14:0	0,06
C 16:0	11,02
C 18:2 (omega 6)	35,39
C 18:1 (omega 9)	28,59
C18:3 (omega 3)	18,03
C 18:0	4,12
C18:1 (omega 9)	1,29
C 20:0	0,44
C 20:1 (omega 9)	0,36
C 18:2 (omega 6)	0,33
C 16:1	0,15
C 17:0	0,10
C 20:3 (omega 3)	0,08
C 16:1	0,05

Çizelge 3.12. *Ricinus communis* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
C 16:0	2,86
C 18:0	2,00
Risinoleik asit	85,73
C 18:1 (omega 9)	8,07
C 18:3 (omega 3)	0,78
C 20:1 (omega 9)	0,46
C 20:0	0,11

Çizelge 3.13. *Rosmarinus officinalis* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Metil 1-metil-d3-2-propenil eter	19,79
1-propanol	11,66
Alfa pinen	11,59
Kamfor	11,57
Dipropilen glikol	11,51
Okaliptol	9,98
Limonen	5,02
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	3,46
1-propanol	3,31
Kamfen	3,14
Beta pinen	1,96
Alfa tripenol	1,20
p-simen	1,04
İzobornol (isomer 2)	0,96
Terpinolen	0,76
Beta karyofilen	0,56
Gama terpinen	0,51
Mirsen	0,40
Alfa terpinen	0,34
İzobornol (izomer 1)	0,33
9,12-oktadekadienoik asit	0,32
Delta-3-karen	0,30

Çizelge 3.14. *Vitis vinifera* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
C 16:0	10,66
C 18:0	4,81
C 18:2 (omega 6)	41,41
C 18:1 (omega 9)	31,42
C 18:1 (omega 9)	6,24
C 20:3 (omega 3)	5,46

Çizelge 3.15. *Thymus vulgaris* kimyasal bileşenleri

Bileşen	%
Karvakrol	25,79
2-propanol	12,85
Karvakrol	9,51
2-butanol	7,50
BIS (1-metil-2-hidroksietil) eter	7,27
Timol	6,39
p-simen	5,59
Linalol	4,71
Nerolidol	3,10
Benzen	3,03
İzobornol (izomer 2)	2,43
1-propanol	2,18
1-propanol	2,01
4-karvomentenol	1,49
Gama terpinen	0,99
Alfa terpinol	0,93
Beta karyofilen	0,93
Alfa terpinen	0,63
Sabinen	0,52
Karyofilen oksit	0,48
Mirsen	0,42
Karvon	0,34
Benzaldehit	0,34
Alfa pinen	0,29
Benzen	0,29

3.1.6. Antimikrobiyal çalışmada kullanılan çözelti ve besiyerlerinin hazırlanması

Katı (agar base) besiyerinin hazırlanması

28,1 gr Brucella Broth ve 15 gr Bacto agar tartılıp, üzerine 1000 ml distile su eklendi ve 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan çıkarılan besiyeri şişesi yanağı yakmayacak kadar soğuduğunda içerisine % 10 oranında FBS ve hazırlanan antibiyotikler eklendi. FBS ve antibiyotik ilavelerinden sonra besiyeri petri kaplarına yaklaşık yarım cm olacak şekilde ilave edildi [261].

Katı besiyeri için antibiyotik stoklarının hazırlanması

1. *Antibiyotik stoğu:* 100 mg Trimethoprim 20 ml DMSO içinde çözüldü, 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek stoklandı.
2. *Antibiyotik stoğu:* 100 mg Vancomycin Hydrochloride, 50 mg Cefsulodin Sodium Salt, 3,3 mg Polymyxin B Sulfate 50 ml distile suda çözüldü, 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek stoklandı.
3. *Antibiyotik:* 1 gr β-Cyclodextrin 5 mL DMSO içinde çözüldü. 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek stoklanmadan hemen besiyerine ilave edildi.

Hazırlanan bu antibiyotik stoklarından besiyerine antibiyotikler aşağıda belirtilen miktarlarda eklendi.

1. Antibiyotik stoğundan 1000 ml'lik besiyeri için 500 µl,
2. Antibiyotik stoğundan 1000 ml'lik besiyeri için 2,5 ml eklendi.

Sıvı besiyerinin hazırlanması

28,1 gr Brucella Broth tartılıp üzerine 1000 ml distile su eklendi ve 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan çıkarılan besiyeri şişesi yanağı yakmayacak kadar soğuduğunda 18 ml besiyerine 2 ml FBS ve 20 µl vancomycin hydrochloride eklendi [261].

Sıvı besiyeri için antibiyotik stoğu hazırlanması

100 mg vancomycin hydrochloride 10 mL distile suda çözümlenip ve 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek -20 °C'de stoklandı.

Bitkisel yağların çözeltilerinin hazırlanması

10 µl DMSO 90 µl distile su ile karıştırılarak % 10'luk sulandırılmış DMSO hazırlandı. Bu karışımdan 10 µl çekilerek 90 µl bitkisel yağ üzerine eklendi ve bitkisel yağlar toplamda %1'lik DMSO içerisinde hazırlandı. Karışım 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek steril edildi.

H. pylori üreaz testi besiyerinin hazırlanması

1 litrelik içeriğinde; 1 g pepton, 1 g glikoz, 5 g sodyum klorid, 2 g potasyum dihidrojen fosfat, 0,012 g fenol kırmızısı ve 12 g agar bulunan besiyerinden 21 g tartılarak 950 ml distile su içerisinde çözüldü. 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Üzerine aseptik koşullarda 0,22 µm'lik membran filtreden geçirilerek steril edilen % 40'lık 50 ml üre ilave edildi [262].

3.1.7. Sitotoksisite çalışmasında kullanılan çözelti ve besiyerlerinin hazırlanması

MTT solüsyonunun hazırlanması

Bir tüp MTT [M-5655], 3 ml fenol kırmızısı ve serum içermeyen DMEM besiyeri ile karıştırıldı. MTT'nin ışığa hassasiyeti nedeni ile işlemler karanlıkta yapıldı.

Bitkisel yağların stok çözeltilerinin hazırlanması

Çalışmada, kullanılan yağların konsantrasyonları 1, 5, 50, 100, 250 ve 500 µl/ml olarak belirlendi. Hazırlanan stok solüsyon DMEM besiyerine eklenerek belirlenen konsantrasyonlarda yağ-DMSO karışımı içeren besiyeri hazırlandı. Stok solüsyonlar, 10000 µl yağ ile 10 µl DMSO karıştırılarak hazırlandı.

DMEM besiyerinin hazırlanması

Hücrelerin tripsinizasyonundan sonra hücreler üzerine ilave edilen besiyeridir. % 15 FBS, % 1 Penisilin-Streptomisin DMEM besiyeri içerisine ilave edilerek hazırlandı.

Bitkisel yağ dilüsyonlarının hazırlandığı fenol kırmızısı içermeyen DMEM besiyerinin hazırlanması

Spektrofotometrik ölçümlerde kullanılmak üzere hazırlanan besiyeridir. % 15 FBS, % 1 Penisilin-Streptomisin, % 1 L-Glutamin fenol kırmızısı içermeyen DMEM besiyerine ilave edilerek hazırlandı.

DMEM F12 kültür besiyerinin hazırlanması

HUVEC hücre dizisi kültüründe kullanılan besiyeridir. % 15 FBS, % 1 L-glutamin ve % 1 Penisilin-Streptomisin DMEM F12 besiyeri içerisine ilave edilerek hazırlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Antimikrobiyal deneyler

Helicobacter pylori kültürü

Sıvı azot tankından çıkarılan bakteri steril pipet ucu ile kriyotüpten kazınarak, petrideki katı besiyerinin merkezine küçük bir miktar bırakıldı, kendi kendine eriyerek kuruması beklendi ve petri ters çevrilerek 37°C'lik CO₂'li etüvde gece boyunca inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonucunda petriler morfolojik olarak farklı koloni oluşumu bakımından değerlendirildi. Steril öze ile alınan hücreler mikroskopta 40X büyütme ile bakılarak hareket ve kontaminasyon bakımından değerlendirildi. Petride üremiş olan hücreler steril eküvyon ile alındı ve içinde besiyeri bulunan ependorfta eküvyon karıştırıldı ve yeni bir petriye aynı eküvyon ile tüm yüzeye eşit şekilde yayma ekim yapılarak hücreler pasajlandı ve gece boyu inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonunda petride üreyen bakteriler yine steril eküvyon ile alınarak içinde FBS ve antibiyotik bulunan sıvı besiyerine aktarıldı ve gece boyu karıştırıcı inkübatörde (37°C, 100 rpm) bırakıldı. İnkübasyon sonucunda antimikrobiyal aktivite testleri için kullanılacak bakteri sayısını belirlemek amacıyla spektrofotometre cihazında hücre sayımı yapıldı, aynı zamanda Gram boyama, üreaz ve katalaz testleri ile bakterinin tanımlanması yapıldı [128].

Gram boyama

Lamin bir ucuna yaklaşık 10 µl besiyeri damlatıldı. Petrideki hücrelerden öze yardımı ile çok az bir miktar alındı ve lamdaki besiyeri üzerine bırakıldı. Lam kuruduktan sonra 3 kez alevden geçirilerek tespit edildi. Sonrasında sırasıyla, kristal viyolet ile 1 dakika boyandıktan sonra yıkandı, logol ile 1 dakika boyandıktan sonra yıkandı, sonrasında alkol ile yıkanarak renksizleştirme yapıldı ve son olarak sulu fuksin ile 1 dakika boyanarak yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra preparat üzerine immersiyon yağı damlatılarak 100X objektifte bakıldı ve fotoğrafları kaydedildi [263].

H. pylori'nin üreaz ve katalaz testleri ile özelliklerinin belirlenmesi

Taze kültürden alınan bakteriler, 1,5 ml'lik ependorf tüplerde hazırlanan üre besiyeri üzerine ekildi ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Besiyeri renginin sarıdan pembeye dönmesi ortamda *H. pylori* varlığının göstergesi olarak pozitif kabul edildi. Katalaz testi için, taze kültürden alınan koloni lam üzerine koyularak üzerine % 3'lük hidrojen peroksit damlatıldı. Gözlenen kabarcık oluşumu *H. pylori* varlığının göstergesi olarak pozitif kabul edildi.

H. pylori hücre sayımı

Hücrelerin zamanla büyüme eğrisinin oluşturulabilmesi için 48 saat boyunca belirli zamanlarda hücre sayımı yapıldı. Katı besiyerinden sıvı besiyerine pasajlanan bakterilerden 2. saatin sonunda 20 µL alınarak üzerine 980 µL besiyeri koyuldu ve UV-VIS spektroskopisinde 600 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

Bitkisel yağların *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri

Antimikrobiyal ajan duyarlılık testlerinde kullanılan yöntemlerden biri dilüsyon testleridir. Dilüsyon testleri ile antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek için gerekli olan MİK değerini belirlemek mümkündür. Çalışmamızda bitkisel yağların MİK değerlerine 96 kuyulu U tabanlı mikropalaklar kullanılarak mikrodilüsyon yöntem ile bakıldı. İnhibisyon konsantrasyonları belirlendikten sonra bakterisidal konsantrasyon da MBK testi ile belirlendi [264-266].

MİK ve MBK testleri

96 kuyulu plağın test edilecek konsantrasyonlar için her bir kuyucuğuna 100 µl % 10 FBS içeren Brucella broth besiyeri eklendi. 90 µl yağ ve 10 µl sulandırılmış DMSO steril eppendorf tüpte vortexlenerek karıştırıldı ve 100 µl Brucella broth besiyeri içeren ilk kuyucuğa eklendi. Bitkisel yağların, ilk kuyucukta % 45 oranından başlayarak toplam 8 farklı konsantrasyon (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256) olacak şekilde iki kat seri dilüsyonları hazırlandı. Daha sonra her bir kuyucuğa 106/100 µl CFU bakteri süspansiyonu eklendi. Pozitif kontrol olarak Amoxicillin negatif kontrol olarak %1'lik DMSO kullanıldı. Aynı zamanda bir kuyucukta herhangi bir bitkisel yağ ilavesi olmadan

H. pylori üremesi, diğer bir kuyucukta besiyeri üzerine DMSO yağ karışımı da kontrol grubu olarak değerlendirildi. 25 µg Amoxicillin pozitif kontrol kuyucuğuna, 10 µl %1'lik DMSO ise negatif kontrol kuyucuğuna eklenerek test edildi. Plak 37°C' de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üremenin olmadığı ilk kuyucuktaki % yağ konsantrasyonu MİK değeri olarak tanımlandı. MBK için, kuyucuklardan 10 µl çekilerek, her bir konsantrasyon için bölmelere ayrılan Brucella agar içeren petrilere ekim yapıldı ve 37°C' de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üremenin olmadığı ilk kuyucuktaki % yağ konsantrasyonu MBK değeri olarak tanımlandı.

3.2.2. Sitotoksisite deneyleri

H. pylori'ye karşı antimikrobiyal etkilerini araştırdığımız bitkisel yağların sağlıklı hücreler üzerinde toksik etkili olup olmadıklarını araştırmak amacıyla HUVEC hücre dizisi üzerinde sitotoksisite deneyleri yapılmıştır.

Azot tankından alınan hücrelerin kültürünün yapılması ve tripsinizasyonu

Bitkisel yağların sitotoksik etkilerinin analizinde HUVEC (ATCC® CRL-1730™) hücre dizisi kullanıldı. % 10 FBS, % 1 Penisilin-Streptomisin ve % 5 DMSO içeren DMEM besiyerinde saklanan hücreler -80°C'den alındıktan sonra 37°C sıcaklıkta su banyosunda çözümleri sağlandı. Çözülen hücreler buldukları kryotüpten alınarak 15 ml hacimli polipropilen steril konik kapaklı tüplere aktarıldı. Çözülmüş hücrelerin üzerine flaskın kenarından yavaş yavaş eklenerek 37°C'ye ısıtılmış, % 10 FBS ve % 1 Penisilin-Streptomisin içeren DMEM besiyeri toplamda 10 ml olacak şekilde eklendi. Eklenen her 1 ml'de tüp yavaşça sallanarak taze besiyeri ile hücrelerin karışması sağlandı. Hücreler 300 g'de 5 dakika boyunca santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet % 15 FBS ve % 1 Penisilin-Streptomisin içeren DMEM/F12 besiyeri ile süspanse edildi. Süspanse edilen hücreler 6 ml besiyeri ile birlikte 25 cm² kapasiteli flasklara transfer edildi. 37°C'de % 5 CO₂ içeren inkübatörde hücreler kültüre edildi. Her iki günde bir besiyeri değiştirildi. HUVEC hücre dizisi kültüründe % 15 FBS, % 1 L-glutamin ve % 1 Penisilin-Streptomisin içeren DMEM/F12 besiyeri kullanıldı. Hücrelerin flaskın taban yüzeyini kaplaması yaklaşık %70 civarına ulaştığında besiyeri uzaklaştırılarak flasklar DPBS ile yıkanmış, hemen ardından flasklara 1 ml % 0,05 Tripsin-EDTA eklendi. Hücreler tripsin ile 37 °C'de 5 dakika inkübe edilerek flasktan ayrılmaları sağlandı. Tripsin ile inkübasyonu takiben %

10 FBS içeren DMEM besiyeri hücrelerin üzerine eklenerek tripsinin inhibisyonu sağlandı. Hücreler 300 g'de 5 dakika santrifüjlendi, süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet, hücrelerin kültürlerinde kullanılan besiyerleriyle süspanse edilerek 75 cm² kapasiteli flasklara transfer edildi. Hücreler konflue olduklarında tripsin ile kültür flasklarından kaldırılarak 96 kuyucuklu test plaklarına aktarıldı. Kuyucuklara aktarılmadan önce THOMA lamı ile hücreler sayıldı, her kuyucuğa 5 x 10³/150 µl hücre gelecek şekilde ekim yapıldı [267].

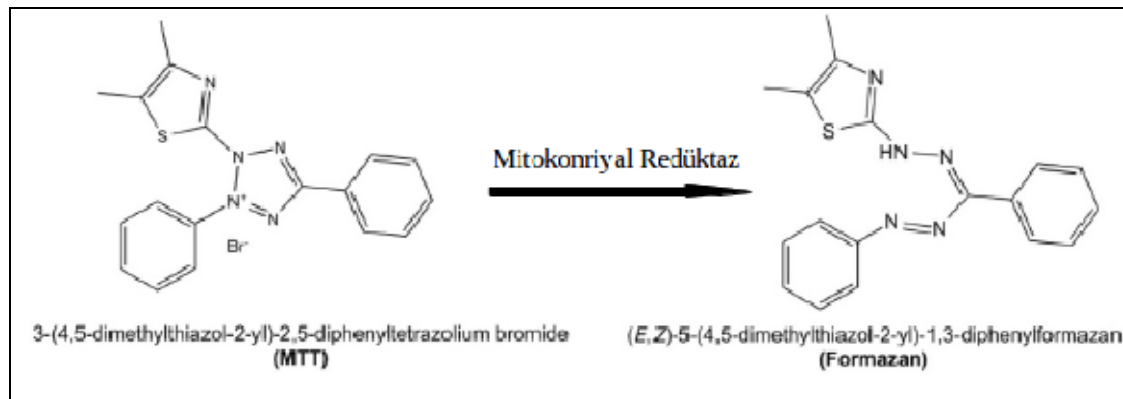
HUVEC hücrelerinin sayımı

Hücre sayımı THOMA lamı adı verilen özel sayım lamlarında yapıldı. 1 ml kültür medyumunda sulandırılan hücre süspanسیونundan 10 µl alınarak endorf tüpe koyuldu ve üzerine 90 µl Tripin Blue boyası koyularak karıştırıldı. Bu karışım Thoma lamına koyuldu. Thoma lamında 5 bölmedeki hücreler sayılarak aritmetik ortalaması alındı ve 1 ml'deki hücre sayısı verilen formüle göre hesaplandı.

$$1\text{ml'deki Hücre Sayısı} = \text{Ortalama hücre sayısı} \times \text{Seyreltme faktörü} \times 10^4$$

MTT testi

Tetrazolium tuzlarının dört azot atomuna sahip, pozitif yüklü kuarternar tetrazol halkası vardır. Bu merkez yapısı, üç aromatik grup (genellikle fenil grubu) ile çevrilidir. Mitokondriyal enzim aktivitesini takiben tetrazolium yapıları, tetrazol halkasının açılması ile renkli formazan bileşiklerini meydana getirirler (Şekil 3.1) [268].



Şekil 3.1. Formazan kristallerinin oluşum reaksiyonu

MTT, suda çözünebilir sarı renkli bir tetrazolium tuzudur. Pozitif yüklü bir bileşik olup hücre içine rahatlıkla girebilmektedir. MTT testi, hücre canlılığı tayininde standart olarak kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir. Testin prensibi, MTT'nin metabolik olarak aktif olan canlı hücrelerde bulunan mitokondriyal dehidrojenaz enzimleri (özellikle süksinat dehidrojenaz enzimi) tarafından suda çözünmeyen, mor renkli formazan bileşiklerine dönüştürülmesi esasına dayanmaktadır [269]. Oluşan mor renkli suda çözünmeyen kristaller organik çözücüler ile çözülür ve oluşan renk 570 nm dalga boyunda optikal yoğunluğun ölçülmesiyle kantite edilir. Elde edilen değer bütünlüğü bozulmamış canlı hücre miktarıyla orantılıdır. Sitotoksik bileşenler hücre metabolizmasına zarar vererek formazan bileşiklerine indirgenen MTT'nin miktarını azaltmaktadır buna bağlı olarak formazan oluşumu azalmakta, renk açılmakta ve ölçülen optik yoğunluk da azalmaktadır [270]. Yapılan çalışmada Sigma MTT-Based In Vitro Toxicology Assay Kit (Katalog No: TOX1-1KT, Sigma Aldrich, Almanya) kullanıldı.

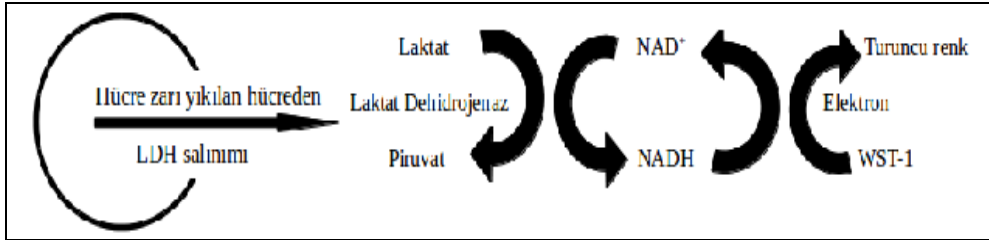
Bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerindeki canlılık oranlarının MTT testi ile incelenmesi

HUVEC hücre dizisi kültüre edildikten sonra thoma lamında sayımları yapılarak her bir kuyucuğa 150 µl'de 5×10^3 hücre olacak şekilde ekim yapıldı. Bitkisel yağların 6 farklı konsantrasyonu (1, 5, 50, 100, 250, 500 µl/ml), kontrol grubu ve blank olmak üzere her bir yağ için toplam 8 kuyucuk kullanıldı. Kontrol olarak bir kuyucuğa 150 µl besiyeri ve hücre, blank olarak bir kuyucuğa hücresiz olarak 150 µl besiyeri konuldu. Daha sonra plak 37 °C' de % 5 CO₂'li inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakıldı. Kültürün yüzey kaplaması mikroskopta bakılarak gözlemlendi. İnkübasyon sonucunda kuyucuklardaki besiyerleri tamamen uzaklaştırılmış ve farklı konsantrasyonlarda besiyeri ile dilüe edilerek hazırlanan sitotoksik etkisi incelenecek olan bitkisel yağlar 150 µl olacak şekilde kuyucuklara eklendi. Plaklar 24 ve 48 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki farklı konsantrasyonda bitkisel yağları içeren besiyeri uzaklaştırılarak hazırlanan MTT stok solüsyonundan 50 µl kontrol grubu ve blank de dahil olmak üzere tüm kuyucuklara eklenerek 37 °C' de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oluşan formazan kristallerinin çözülebilmesi için 50 µl MTT Solubilization Solution [M-8910] kuyucuklara eklendi çözünme sağlandığında spektrofotometrik ölçüm, BioTek Epoch spektrofotometre ile 570 nm'de yapıldı. Canlılık oranı aşağıdaki formüle göre hesaplandı [271,272].

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{\text{OD Test Örneği} - \text{OD Blank}}{\text{OD Kontrol} - \text{OD Blank}} \times 100$$

LDH testi

Laktat dehidrogenaz, laktattan piruvat oluşumunu sağlayan sitoplazmik bir enzimdir. LDH yöntemi; bütünlüğü bozulan hücrelerden kültür besiyerine yayılan LDH enzimi varlığında, laktattan piruvat oluşumu ile eş zamanlı olarak NAD^+ redüksiyonu sonucu NADH/H^+ oluşumuna dayanır. (Şekil 3.2). Hücre içi LDH enziminin besiyerine sızması, hücre ölümünün belirtici olarak kullanılmaktadır [273].



Şekil 3.2. LDH enzimi varlığında, laktattan piruvat oluşumu ile eş zamanlı olarak NAD^+ redüksiyonu sonucu NADH/H^+ oluşumu

Çalışmamızda Cell Bio Labs CytoSelect LDH Cytotoxicity Assay Kit (Katalog No: CBA241) kullanılmıştır. Kitin içeriğindeki test bileşeninde bulunan WST1, negatif yüklü bir tetrazolium tuzu olup NAD redüksiyonu ile formazan bileşiğini oluşturur. Oluşan bileşik spektrofotometrik ölçüm ile analiz edilir. Görece toksisite, aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\% \text{ Sitotoksosite} = 1 - \frac{\text{OD Test Örneği} - \text{OD Negatif Kontrol}}{\text{OD pozitif Kontrol} - \text{OD Negatif Kontrol}} \times 100$$

Bitkisel yağların sitotoksik etkilerinin LDH testi ile incelenmesi

LDH ölçümü Cell Bio Labs CytoSelect LDH Cytotoxicity Assay Kitine göre yapıldı. Bitkisel yağ uygulaması yapılmış olan (hücre ve bitkisel yağlı besiyeri içeren 150 µl) 96 kuyulu plaktan, başka bir plağa 90 µl hücre besiyeri (LDH analizi için sadece besiyeri gerekmektedir) aktarıldı. Aynı zamanda plağa Triton x100 ile öldürülmüş hücrelerden

oluşan pozitif kontrol grubu ve canlı hücrelerden oluşan negatif kontrol grubu da ekildi. Sonrasında hazırlanan LDH çalışma solüsyonundan 20 µl kuyucuklara eklendi, horizontal karıştırıcıda 100 rpm'de 5 dakika karıştırılarak optik dansiteleri mikropate okuyucuda 340 nm dalga boyunda belirlendi [274,275].

3.2.3. İstatistiksel değerlendirmeler

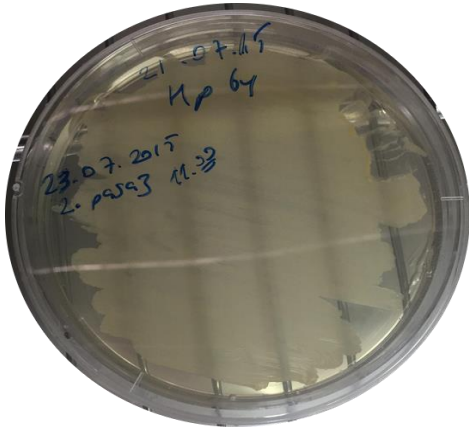
Doz ve yüzde sitotoksosite değerleri için istatistiksel analiz " SPSS software for Windows version 17,0 (Statistical Package for the Social Sciences Inc, Chicago, IL, USA)" programı kullanılarak yapılmıştır. Sürekli değişkenler "Ortalama ± Standart Sapma" olarak belirtilmiştir. 24. ve 48. saat değerleri kendi grupları içinde Friedman testi kullanılarak ($p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir), 24. ve 48. saat değerlerinin birbirleri ile karşılaştırması ise Mann Whitney-U testi kullanılarak ($p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir) değerlendirilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi, grupların ikili olarak kendi aralarında karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Antimikrobiyal Deney Sonuçları

4.1.1. *H. pylori* kültürü

Brucella agarda kültüre edilen *H. pylori* Resim 4.1'de gösterilmiştir.



Resim 4.1. *H. pylori*'nin Brucella agardaki görüntüsü

Brucella brothda kültüre edilen *H. pylori* Resim 4.2'de gösterilmiştir.



Resim 4.2. *H. pylori*'nin Brucella broth besiyerindeki görüntüsü

Flask içerisinde sıvı besiyerinde kültüre edilen *H. pylori* gece boyunca karıştırıcı inkübatörde bırakılarak inkübe edilmiştir (Resim 4.3).



Resim 4.3. Karıştırıcı inkübatörde *H. pylori* inkübasyonu

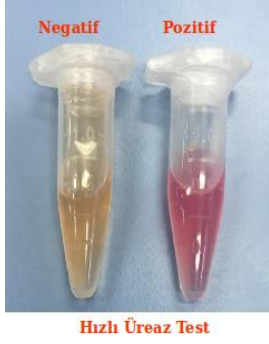
4.1.2. *H. pylori*'nin kültür örneklerinden gram boyama, üreaz ve katalaz ile incelenmesi

Katı besiyerinde çoğalan *H. pylori*, gram boyama, üreaz ve katalaz testleri ile incelendi. Kültürden izole edilen *H. pylori* ile yapılan gram boyamada bakteri tipik görünümünün yanısıra düz basiller şeklinde de görüldü (Resim 4.2).



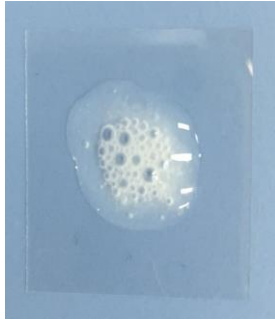
Resim 4.4. Kültürden izole edilen *H. pylori*'nin Gram boyama görüntüsü

Üreaz testinde ortam renginin sarıdan pembemsi-kırmızıya dönüşmesi ile *H. pylori*'nin varlığı saptandı (Resim 4.3).



Resim 4.5. *H. pylori*'nin hızlı üreaz testi ile tanımlanması

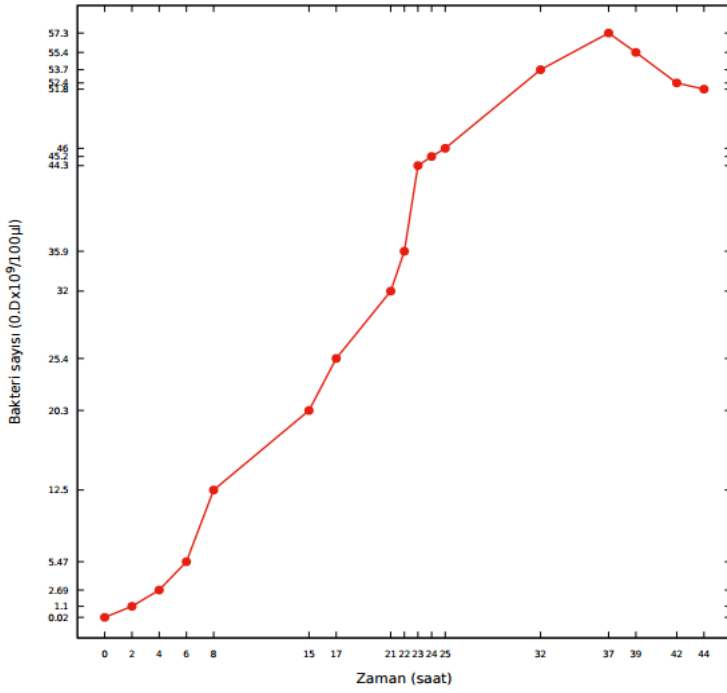
Katalaz testinde, üzerine % 3'lük hidrojen peroksit damlatılan kolonilerde kabarcık oluşumunun gözlenmesi ile *H. pylori*'nin varlığı saptandı (Resim 4.4).



Resim 4.6. *H. pylori*'nin lamel üzerinde katalaz testi ile tanımlanması

4.1.3. *H. pylori* büyüme eğrisi

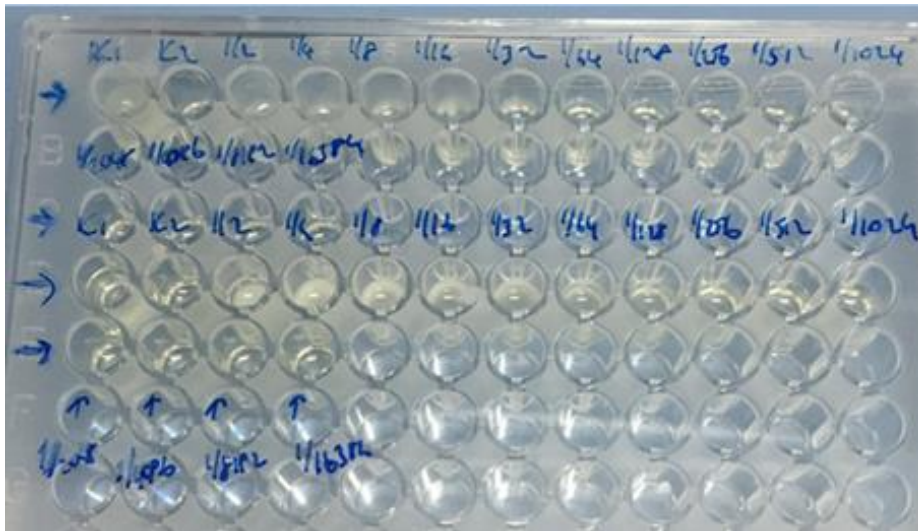
H. pylori'nin büyüme eğrisi 600 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre cihazı ile hücre sayımı yapılarak belirlendi. Yapılan sayım sonucunda *H. pylori*'nin 37. saatte maksimum miktara ulaştığı gözlemlendi. Buna göre deneyler 37. saatten önce bakteri logaritmik artış fazındayken yapıldı. Bakterinin durumu mikroskopik olarak da kontrol edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *H. pylori* büyüme eğrisi

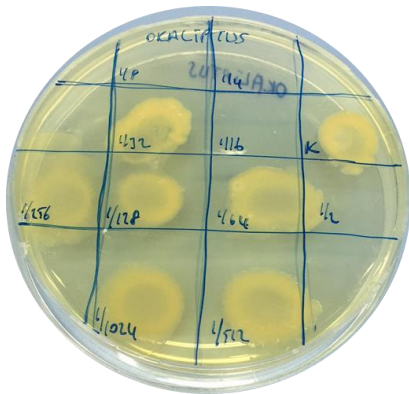
4.1.4. Bitkisel yağların antibakteriyel etkinlik sonuçları

Bitkisel yağların minimum inhibisyon konsantrasyonlarının değerlendirildiği mikrodilüsyon yöntemi Resim 4.7’de gösterilmiştir.

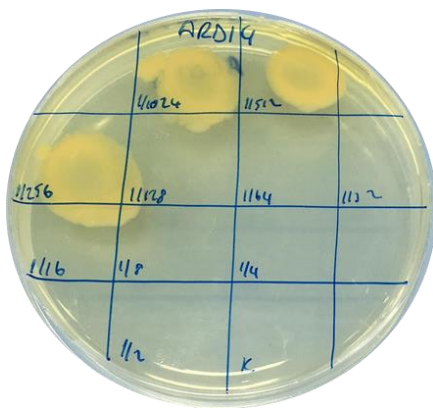


Resim 4.7. Bitkisel yağının *H. pylori*'ye karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunun mikro dilüsyon yöntemiyle değerlendirilmesi

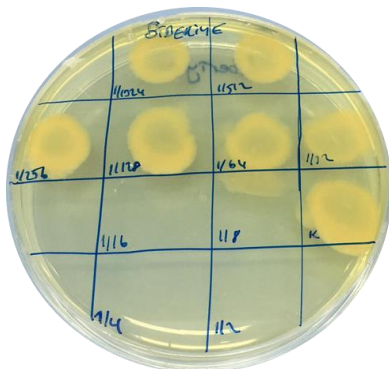
H. pylori'ye karşı antimikrobiyal etkili olan *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris* yağlarının minimum bakterisidal konsantrasyonlarının değerlendirilmesi Resim 4.8-4.11’de verilmiştir.



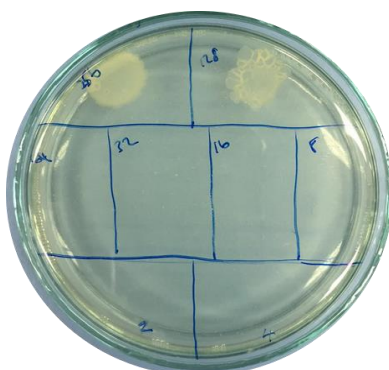
Resim 4.8. *Eucalyptus globulus*, MBK: 1/16 konsantrasyonda (5,62 % v/v)



Resim 4.9. *Juniperus communis*, MBK: 1/128 konsantrasyonda (0,70 % v/v)



Resim 4.10. *Rosmarinus officinalis*, MBK: 1/16 konsantrasyonda (5,62 % v/v)

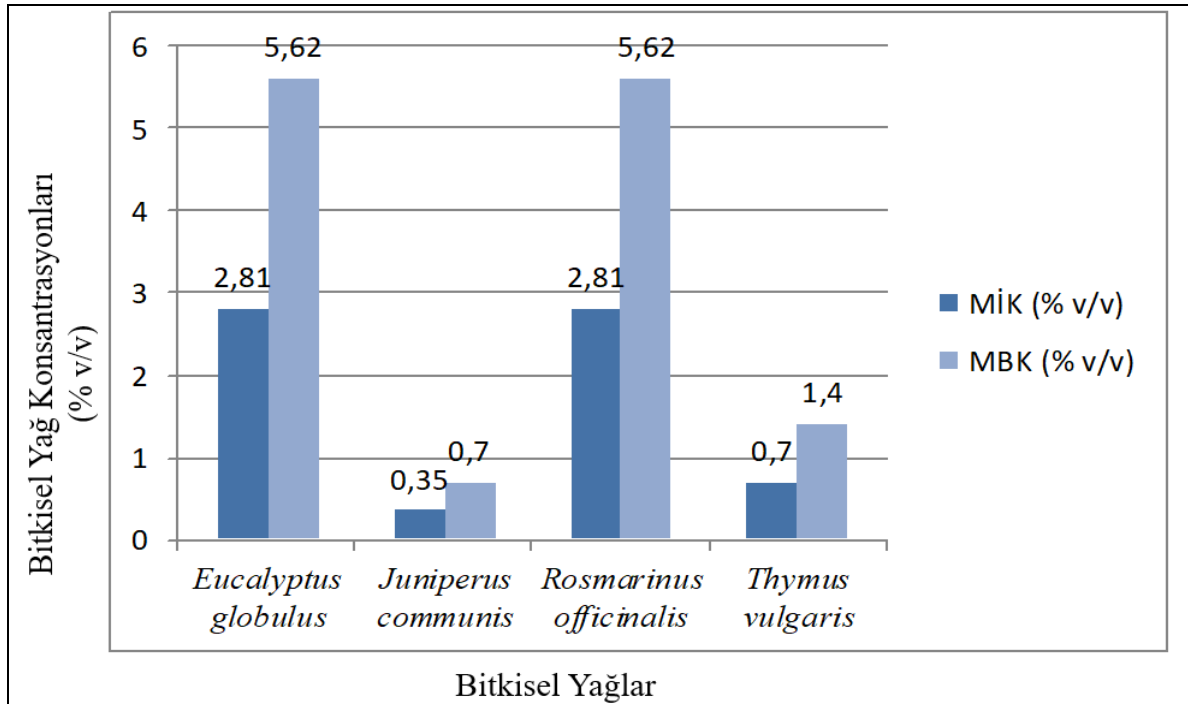


Resim 4.11. *Thymus vulgaris*, MBK: 1/64 konsantrasyonda (1,40 % v/v)

H. pylori'ye karşı antibakteriyal etkinlikleri araştırılan bitkisel yağların MİK ve MBK değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Etkinliği saptanan dört bitkisel yağın MİK ve MBK değerleri ayrıca Şekil 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitkisel yağların *H. pylori*'ye karşı MİK ve MBK değerleri (% v/v)

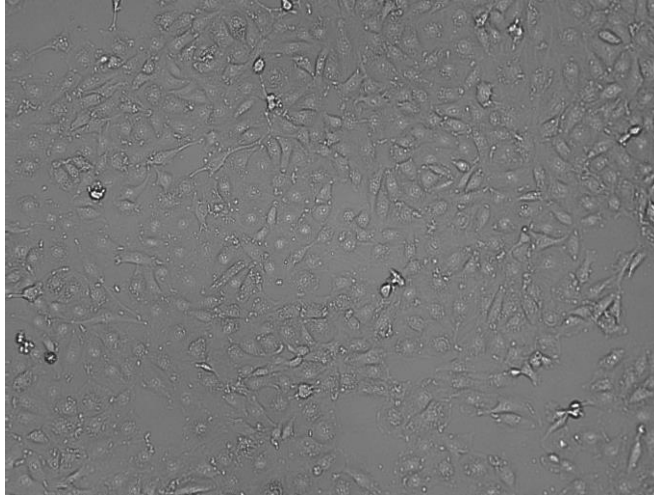
Bitkisel Yağlar	Bitkisel Yağların Test Edilen Konsantrasyonları (% v/v)	MİK (% v/v)	MBK (% v/v)
<i>Anemone sp.</i>	45-0,35	-	-
<i>Anthemis nobilis</i>		-	-
<i>Citrus limonum</i>		-	-
<i>Citrus sinensis</i>		-	-
<i>Cocos nucifera</i>		-	-
<i>Eucalyptus globulus</i>		2,81	5,62
<i>Juniperus communis</i>		0,35	0,70
<i>Lavandula angustifolia</i>		-	-
<i>Linum usitatissimum</i>		-	-
<i>Ricinus communis</i>		-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>		2,81	5,62
<i>S. Vitis vinifera</i>		-	-
<i>Thymus vulgaris</i>		0,70	1,40



Şekil 4.2. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etki gösteren yağların MİK ve MBK değerleri

4.2. Sitotoksosite Deney Sonuçları

HUVEC hücre dizisi kültürü Resim 4.6.'de gösterilmiştir.



Resim 4.12. HUVEC hücrelerinin 24 saatlik kültürlerinin görüntüsü (30X)

4.2.1. Sitotoksosite deneyleri sonucunda ölçülen absorbans ve istatistiksel değerler

Bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerindeki LDH ve MTT yöntemleri uygulanarak elde edilen absorbans değerleri ile bu değerlerden hesaplanan % sitotoksosite ve % canlılık değerlerinin istatistiksel analizleri Çizelge 4.2 -4.53' de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *Anemone sp.*'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Anemone sp.</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml	
24. saat		0,487	0,519	0,546	0,547	0,589	2,817	2,998
48. saat		1,671	1,856	1,105	1,292	1,327	2,005	3,186

Çizelge 4.3. *Anemone sp.*'nin HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,026
48. saat	0,26 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,010
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	> 0,05	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.2’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.3 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarda anlamlı bir fark saptanmamıştır. 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonlarda 48. saatte *Anemone sp.*’nin HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisi daha yüksek olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.4. *Anemone sp.*’nin HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Anemone sp.</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,634	0,606	0,607	0,610	0,607	0,104	0,652	0,102
48. saat	0,618	0,537	0,387	0,386	0,263	0,205	0,684	0,097

Çizelge 4.5. *Anemone sp.*’nin HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,97 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,030
48. saat	0,89 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.4’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.5 incelendiğinde; 24. saatte canlılık oranında ilk konsantrasyondan sonra azalma saptanırken, 500 µl/ml konsantrasyonuna kadar artan konsantrasyonlarda canlılık oranında azalma saptanmamıştır. 48. saatte ise, konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmış ancak 50, 100 µl/ml konsantrasyonlarında canlılık oranında azalma saptanmamıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise, 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 48. saatte canlılık oranının daha düşük olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.6. *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbands değerleri

Bitki	<i>Anthemis nobilis</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,671	0,543	0,576	1,430	1,721	2,738	2,998	0,356
48. saat	2,708	2,911	2,975	2,984	2,925	3,001	3,186	1,12

Çizelge 4.7. *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,11 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,010
48. saat	0,76 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,87 ± 0,01	0,91 ± 0,01	0,015
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.6'da verilen absorbands değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.7 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça toksitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise 500 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.8. *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbands değerleri

Bitki	<i>Anthemis nobilis</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,632	0,625	0,591	0,562	0,475	0,208	0,652	0,102
48. saat	0,226	0,205	0,201	0,202	0,203	0,202	0,684	0,097

Çizelge 4.9. *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,96 ± 0,07	0,95 ± 0,14	0,89 ± 0,03	0,83 ± 0,04	0,68 ± 0,05	0,20 ± 0,15	0,041
48. saat	0,22 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,340
P**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.8’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.9 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 48. saatte konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise 500 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda *Anthemis nobilis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak 48. saatte canlılık oranı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.10. *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Citrus limonum</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,621	0,920	0,977	0,990	1,062	2,677	2,998	0,356
48. saat	2,671	2,790	2,827	2,886	2,982	2,998	3,186	1,12

Çizelge 4.11. *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,10 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,87 ± 0,01	0,010
48. saat	0,75 ± 0,01	0,80 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,93 ± 0,03	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.10’da verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.11 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı gözlenmiştir. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.12. *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Citrus limonum</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,791	0,735	0,741	0,736	0,725	0,249	0,652	0,102
48. saat	0,262	0,238	0,227	0,197	0,193	0,189	0,684	0,097

Çizelge 4.13. *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	1.25 ± 0,01	1.15 ± 0,02	1.16 ± 0,03	1.15 ± 0,02	1.13 ± 0,03	0,26 ± 0,01	0,041
48. saat	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,014
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.12’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.13 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Citrus limonum*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak 48. saatte canlılığın daha yüksek oranlarda azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.14. *Citrus sinensis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki Hücre- Yöntem	<i>Citrus sinensis</i> HUVEC-LDH						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol	
	Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml			500 µl/ml
24. saat		0,681	0,657	0,663	0,683	1,124	2,891	2,998	0,356
48. saat		1,960	2,042	2,719	2,735	2,802	2,841	3,186	1,12

Çizelge 4.15. *Citrus sinensis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,030
48. saat	0,40 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,77 ± 0,01	0,78 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,83 ± 0,03	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.14’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.15 incelendiğinde; 24. saatte 1, 100 µl/ml ve 5, 50 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, 250 ve 500 µl/ml konsantrasyonlarında toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında 500 µl/ml hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 48. saatte toksisitenin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.16. *Citrus sinensis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Citrus sinensis</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,695	0,683	0,651	0,651	0,648	0,257	0,652	0,102
48. saat	0,401	0,352	0,336	0,326	0,310	0,236	0,684	0,097

Çizelge 4.17. *Citrus sinensis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	1.07 ± 0,06	1.05 ± 0,02	1.00 ± 0,01	1.00 ± 0,11	1.00 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,033
48. saat	0,51 ± 0,02	0,43 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.16'da verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.17 incelendiğinde; 24. saatte 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında canlılık oranının değişmediği gözlenirken, diğer konsantrasyonlarda canlılık oranında azalma saptanmıştır. 48. saat konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma gözlenmiştir. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise tüm konsantrasyonlarda 48. saatte canlılık oranı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.18. *Cocos nucifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Cocos nucifera</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,656	0,654	0,614	0,897	1,646	2,550	2,998	0,356
48. saat	1,764	1,877	2,110	2,356	2,508	2,616	3,186	1,12

Çizelge 4.19. *Cocos nucifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,83 ± 0,01	0,012
48. saat	0,31 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,59 ± 0,02	0,67 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,010
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.18’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.19 incelendiğinde; 24. saatte 1, 5 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, artan konsantrasyonlarda toksisitenin arttığı saptanmıştır. 48. saatte, konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 48. saatte *Cocos nucifera*’nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisi daha yüksek olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.20. *Cocos nucifera*’nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Cocos nucifera</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,645	0,641	0,607	0,553	0,556	0,525	0,652	0,102
48. saat	0,538	0,521	0,396	0,350	0,205	0,176	0,684	0,097

Çizelge 4.21. *Cocos nucifera*’nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,99 ± 0,02	0,98 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,77 ± 0,01	0,014
48. saat	0,75 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,010
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.20’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.21 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Cocos nucifera*’nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha fazla olmasına bağlı olarak canlılık oranı 48. saatte daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.22. *Eucalyptus globulus*’un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Eucalyptus globules</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,623	0,642	0,726	0,638	0,681	0,680	2,998	0,356
48. saat	1,639	1,672	1,862	2,541	2,031	2,471	3,186	1,12

Çizelge 4.23. *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,024
48. saat	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,68 ± 0,17	0,44 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,019
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.22'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.23 incelendiğinde; 24. saatte 1, 5 µl/ml ile 250, 500 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, 48. saatte 250, 500 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin azaldığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.24. *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Eucalyptus globules</i>						Kontrol	Blank
Hücre-Yöntem	HUVEC-MTT							
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,595	0,583	0,621	0,634	0,644	0,645	0,652	0,102
48. saat	0,670	0,596	0,573	0,411	0,357	0,172	0,684	0,097

Çizelge 4.25. *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,90 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,94 ± 0,02	0,96 ± 0,02	0,98 ± 0,01	0,98 ± 0,02	0,021
48. saat	0,97 ± 0,01	0,85 ± 0,01	0,81 ± 0,06	0,53 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.24'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.25 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında artış saptanırken 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak 48. saatte canlılık oranı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.26. *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbens değerleri

Bitki	<i>Juniperus communis</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
Hücre-Yöntem	HUVEC-LDH							
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,478	0,506	0,535	0,643	0,703	1,803	2,998	0,356
48. saat	0,328	0,525	0,613	0,927	0,985	1,826	3,186	1,12

Çizelge 4.27. *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,012
48. saat	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,57 ± 0,01	0,010
p**	0,05	0,5	0,05	0,05	0,05	0,12	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.26'da verilen absorbens değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.27 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 5, 500 µl/ml konsantrasyonlarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında 48. saatte *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisi daha yüksek olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.28. *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbens değerleri

Bitki	<i>Juniperus communis</i>						Kontrol	Blank
Hücre-Yöntem	HUVEC-MTT							
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,771	0,704	0,600	0,492	0,237	0,177	0,652	0,102
48. saat	0,542	0,454	0,538	0,191	0,116	0,132	0,684	0,097

Çizelge 4.29. *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	1,21 ± 0,06	1,10 ± 0,03	0,90 ± 0,24	0,70 ± 0,15	0,25 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,012
48. saat	0,75 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,75 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,010
p**	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.28’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.29 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça canlılık oranının azaldığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 50 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda 24. saate kıyasla 48. saatte canlılık oranı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.30. *Lavandula angustifolia*’nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Lavandula angustifolia</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem								
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,568	0,568	0,588	0,620	0,627	1,754	2,998	0,356
48. saat	1,774	1,770	1,969	2,046	2,404	2,907	3,186	1,12

Çizelge 4.31. *Lavandula angustifolia*’nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,013
48. saat	0,31 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,62 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,012
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.30’de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.31 incelendiğinde; 24. saatte 1, 5 µl/ml ile 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında, 48. saatte 1, 5 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, diğer konsantrasyonlarda toksik etkinin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, *Lavandula angustifolia*’nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.32. *Lavandula angustifolia*’nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Lavandula angustifolia</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem								
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,607	0,604	0,609	0,613	0,615	0,118	0,652	0,102
48. saat	0,634	0,515	0,463	0,291	0,228	0,183	0,684	0,097

Çizelge 4.33. *Lavandula angustifolia*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,92 ± 0,03	0,91 ± 0,02	0,92 ± 0,02	0,93 ± 0,02	0,93 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,168
48. saat	0,91 ± 0,01	0,71 ± 0,02	0,62 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,010
p**	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.32'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.33 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyonlara bağlı olarak canlılık oranında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında anlamlı bir azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise 1 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda *Lavandula angustifolia*'nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak 48. saatte canlılık oranı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.34. *Linum usitatissimum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Linum usitatissimum</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,469	0,477	0,478	0,504	0,519	0,682	2,998	0,356
48. saat	1,619	1,786	1,859	1,986	1,985	2,004	3,186	1,12

Çizelge 4.35. *Linum usitatissimum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,019
48. saat	0,32 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,015
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.34'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.35 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde 1, 5 µl/ml ile 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, konsantrasyon arttıkça toksik etkinin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 48. saatte *Linum*

usitatissimum'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.36. *Linum usitatissimum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Linum usitatissimum</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,536	0,509	0,529	0,536	0,559	0,665	0,652	0,102
48. saat	0,515	0,516	0,451	0,334	0,335	0,153	0,684	0,097

Çizelge 4.37. *Linum usitatissimum*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,79 ± 0,08	0,74 ± 0,03	0,77 ± 0,03	0,79 ± 0,01	0,83 ± 0,03	1,02 ± 0,04	0,052
48. saat	0,71 ± 0,01	0,71 ± 0,01	0,60 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,40 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,014
p**	> 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.36'da verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.37 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyonlara bağlı olarak canlılık oranında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1, 5 µl/ml konsantrasyonlarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda, 48. saatte *Linum usitatissimum*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin daha yüksek olmasına bağlı olarak canlılık oranı 48. saatte daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.38. *Ricinus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Ricinus communis</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,473	0,474	0,554	0,628	0,864	1,142	2,998	0,356
48. saat	1,245	1,239	1,252	1,260	1,293	1,569	3,186	1,12

Çizelge 4.39. *Ricinus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,012
48. saat	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,023
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.38'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.39 incelendiğinde; 24. saatte 1, 5 µl/ml konsantrasyonlarında, 48. saatte 1, 5 µl/ml ile 50, 100 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği saptanmıştır. Diğer konsantrasyonlarda toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1, 5 µl/ml konsantrasyonları hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 24. saatte toksik etki daha yüksek olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.40. *Ricinus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Ricinus communis</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,669	0,652	0,669	0,686	0,700	0,702	0,652	0,102
48. saat	0,691	0,620	0,606	0,508	0,356	0,294	0,684	0,097

Çizelge 4.41. *Ricinus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	1.03 ± 0,03	1.00 ± 0,05	1.03 ± 0,03	1.06 ± 0,02	1.09 ± 0,01	1.09 ± 0,02	0,035
48. saat	1.01 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,87 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,34 ± 0,01	0,010
p**	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.40'da verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.41 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında artış saptanırken 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda canlılık oranı 48. saatte daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.42. *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Rosmarinus officinalis</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,544	0,650	0,676	0,710	1,466	1,912	2,998	0,356
48. saat	0,459	0,806	1,205	1,604	2,059	2,344	3,186	1,12

Çizelge 4.43. *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,23 ± 0,20	0,48 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,026
48. saat	0,14 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,64 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,010
p**	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.42'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.43 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.44. *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki	<i>Rosmarinus officinalis</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,835	0,750	0,733	0,738	0,736	0,168	0,652	0,102
48. saat	0,601	0,527	0,406	0,397	0,123	0,139	0,684	0,097

Çizelge 4.45. *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	1,33 ± 0,08	1,18 ± 0,06	1,15 ± 0,06	1,15 ± 0,07	1,15 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,079
48. saat	0,86 ± 0,02	0,73 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,010
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.44'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.45 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyonlara bağlı olarak canlılık

oranında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak canlılık oranı 48. saatte daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.46. *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki Hücre- Yöntem	<i>Vitis vinifera</i> HUVEC-LDH						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml		
24. saat	0,435	0,435	0,449	0,457	0,546	0,726	2,998	0,356
48. saat	1,740	1,908	1,933	1,936	1,936	2,003	3,186	1,12

Çizelge 4.47. *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,30 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,026
48. saat	0,30 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,038
p**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.46'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.47 incelendiğinde; 24. saatte 1 µl/ml konsantrasyonu hariç, 48. saatte ise tüm konsantrasyonlarda, konsantrasyon arttıkça toksik etkinin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.48. *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbans değerleri

Bitki Hücre- Yöntem	<i>Vitis vinifera</i> HUVEC-MTT						Kontrol	Blank
	Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml		
24. saat	0,576	0,608	0,579	0,583	0,589	0,636	0,652	0,102
48. saat	0,615	0,539	0,463	0,369	0,274	0,281	0,684	0,097

Çizelge 4.49. *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,86 ± 0,04	0,92 ± 0,02	0,86 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,033
48. saat	0,88 ± 0,03	0,75 ± 0,01	0,62 ± 0,05	0,46 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,012
p**	> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.48'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.49 incelendiğinde; 24. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında artış saptanırken, 48. saatte konsantrasyon arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1 µl/ml konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer tüm konsantrasyonlarda, *Vitis vinifera*'nın HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olmasına bağlı olarak canlılık oranı 48. saatte daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.50. *Thymus vulgaris*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

Bitki	<i>Thymus vulgaris</i>						Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	HUVEC-LDH							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	1,799	1,730	1,962	1,951	1,966	2,244	2,998	0,356
48. saat	0,142	1,380	1,175	2,110	2,221	2,628	3,186	1,12

Çizelge 4.51. *Thymus vulgaris*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,60 ± 0,01	0,57 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,74 ± 0,01	0,017
48. saat	0,04 ± 0,01	0,43 ± 0,10	0,36 ± 0,01	0,66 ± 0,01	0,46 ± 0,40	0,82 ± 0,02	0,055
p**	0,05	0,05	0,05	0,27	0,50	0,05	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.50'de verilen absorbans değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.51 incelendiğinde; 24. saatte 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, 48. saatte konsantrasyonlara bağlı olarak toksisite oranında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 100 ve 250 µl/ml konsantrasyonlarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 500 µg/ml konsantrasyonu

hariç diğer konsantrasyonlarda ise *Thymus vulgaris*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 24. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.52. *Thymus vulgaris*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının absorbands değerleri

Bitki	<i>Thymus vulgaris</i>						Kontrol	Blank
	HUVEC-MTT							
Hücre-Yöntem	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
Konsantrasyon	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml		
24. saat	0,164	0,109	0,071	0,075	0,087	0,103	0,652	0,102
48. saat	0,447	0,271	0,116	0,147	0,145	0,134	0,684	0,097

Çizelge 4.53. *Thymus vulgaris*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranının istatistiksel değerleri

K	1 µl/ml (n:3)	5 µl/ml (n:3)	50 µl/ml (n:3)	100 µl/ml (n:3)	250 µl/ml (n:3)	500 µl/ml (n:3)	p*
24. saat	0,26 ± 0,13	0,13 ± 0,10	0,35 ± 0,06	0,38 ± 0,03	0,41 ± 0,02	0,46 ± 0,07	< 0,001
48. saat	0,11 ± 0,08	0,13 ± 0,08	0,13 ± 0,08	0,26 ± 0,20	0,41 ± 0,20	0,46 ± 0,11	< 0,001
p**	0,005	0,005	< 0,001	0,23	0,35	0,89	

K: Konsantrasyonlar

* Friedman test

** Mann-Whitney U test

Çizelge 4.52'de verilen absorbands değerlerinden elde edilen istatistiksel değerlerin verildiği Çizelge 4.53 incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde konsantrasyon arttıkça canlılık oranında artış saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 100, 250 ve 500 µl/ml konsantrasyonlarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 5 µl/ml konsantrasyonunda canlılık oranı aynı değerlerde saptanmıştır. 1, 50 µl/ml konsantrasyonlarında ise 48. saatte canlılık oranının daha düşük olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiği tespit edilen *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT ve LDH yöntemleri ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin karşılaştırılmasının istatistiksel değerleri çizelge 4.54 -4.66'de verilmiştir.

Çizelge 4.54. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,019	0,019	0,055	0,016	0,016	0,019
48. saat	0,016	0,016	0,019	0,029	0,099	0,041

* Kruskal-Wallis

Çizelge 4.54 incelendiğinde; *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* karşılaştırıldığında 24. saatte 50 µg/ml konsantrasyonu ile 48. saatte 250 µl/ml konsantrasyonunda 4 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Grupların birbirleriyle karşılaştırılması çizelge 4.60-4.65’de verilmiştir.

Çizelge 4.55. *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris*’in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,827	0,376

* Mann Whitney U

Çizelge 4.55 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris* karşılaştırıldığında, 48. saatte 250 ve 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. 24. ve 48. saatlerde *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilen canlılık oranı *Rosmarinus officinalis*’de daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, *Thymus vulgaris*’in *Rosmarinus officinalis*’e kıyasla HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.56. *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis*’in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,127	0,127	0,513	0,05	0,05	0,127
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,513	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.56 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis* karşılaştırıldığında, 24. saatte 100 ve 250 µl/ml konsantrasyonlarında, 48. saatte ise 250 µl/ml hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. 24. ve 48. saatlerde *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilen canlılık oranı *Rosmarinus officinalis*’de daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, *Juniperus communis*’in *Rosmarinus officinalis*’e kıyasla HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.57. *Rosmarinus officinalis* ve *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,127	0,05	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.57 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Eucalyptus globulus* karşılaştırıldığında 48. saatte 100 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. *Rosmarinus officinalis* ve *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilen canlılık oranı 24. saatte 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis*'de daha yüksek, 48. saatte ise tüm konsantrasyonlarda canlılık oranı *Eucalyptus globulus*'ta daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, 24. saatte *Rosmarinus officinalis* sadece 500 µl/ml konsantrasyonunda *Eucalyptus globulus*'a kıyasla daha toksik, 48. saatte ise tüm konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis* *Eucalyptus globulus*'a kıyasla HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etkili olduğunu ve zamana bağlı olarak *Eucalyptus globulus*'un toksik etkisinin azaldığını göstermektedir.

Çizelge 4.58. *Thymus vulgaris* ve *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,513	0,513	0,513

* Mann Whitney U

Çizelge 4.58 incelendiğinde; *Thymus vulgaris* ve *Juniperus communis* karşılaştırıldığında 48. saatte 100, 250 ve 500 µl/ml konsantrasyonlarında 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. saatte 250 ve 500 µl/ml konsantrasyonlarda, 48. saatte ise 1, 5 ve 50 µl/ml konsantrasyonlarında canlılık oranı *Juniperus communis* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde *Thymus vulgaris*'e oranla daha yüksek saptanmıştır. Bu durumda belirtilen konsantrasyonlarda *Thymus vulgaris* HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.59. *Thymus vulgaris* ve *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.59 incelendiğinde; *Thymus vulgaris* ve *Eucalyptus globulus* karşılaştırıldığında tüm konsantrasyonlarda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. 24. saatte tüm konsantrasyonlarda canlılık oranı *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde daha yüksek iken, 48. saatte 500 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda canlılık oranı *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, HUVEC hücre dizisi üzerinde *Thymus vulgaris*'in 48. saat 500 µl/ml konsantrasyonu hariç tüm konsantrasyonlarda *Eucalyptus globulus*'a kıyasla daha toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.60. *Juniperus communis* ve *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.60 incelendiğinde; *Juniperus communis* ve *Eucalyptus globulus* karşılaştırıldığında tüm konsantrasyonlarda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. 24. saatte 1 ve 5 µl/ml konsantrasyonlarında canlılık oranı *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde daha düşük saptanırken, 48. saatte tüm konsantrasyonlarda canlılık oranı *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde daha yüksek saptanmıştır. Bu durumda, 24. Saat 1 ve 5 µl/ml konsantrasyonları hariç diğer tüm 24. ve 48. saat konsantrasyonlarında *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*'a kıyasla HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etki göstermektedir.

Çizelge 4.61. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,016	0,022	0,016	0,086	0,022	0,016
48. saat	0,016	0,024	0,022	0,024	0,248	0,016

* Kruskal-Wallis

Çizelge 4.61 incelendiğinde; *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* karşılaştırıldığında 24. saat 100 µl/ml konsantrasyonu ile 48. saat 250 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda 24. ve 48. saatlerde 4 grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. Grupların birbirleriyle karşılaştırılması çizelge 4.67-4.71’de verilmiştir.

Çizelge 4.62. *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris*’in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,275	0,05	0,513	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.62 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris* karşılaştırıldığında 48. saatte 50 ve 250 µl/ml konsantrasyonlarında 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. ve 48. saatlerde *Rosmarinus officinalis*’e kıyasla *Thymus vulgaris* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde toksisite oranı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, *Thymus vulgaris*’in HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.63. *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis*’in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,513	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.63 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis* karşılaştırıldığında 24. saat 100 µl/ml konsantrasyonunda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. ve 48. saatlerde tüm konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis* ile

muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde toksisite oranı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, *Rosmarinus officinalis* 'in *Juniperus communis*'e kıyasla HUVEC hücre dizisi üzerinde daha toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.64. *Rosmarinus officinalis* ve *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,376	0,05	0,513	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,275	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.64 incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis* ve *Eucalyptus globulus* karşılaştırıldığında 24. saat 5 ve 100 µl/ml konsantrasyonları ile 48. saat 250 µl/ml konsantrasyonlarında 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. saate tüm konsantrasyonlarda, 48. saate ise 50 ve 500 µl/ml konsantrasyonlarında HUVEC hücre dizisi üzerinde *Rosmarinus officinalis*'in *Eucalyptus globulus*'a kıyasla daha toksik etkili olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.65. *Thymus vulgaris* ve *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,513	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.65 incelendiğinde; *Thymus vulgaris* ve *Juniperus communis* karşılaştırıldığında 48. saatte 250 µl/ml konsantrasyonunda 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. saatte tüm konsantrasyonlarda, 48. saatte ise 1 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda HUVEC hücre dizisi üzerinde *Thymus vulgaris*'in *Juniperus communis*'e kıyasla daha toksik etkili olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.66. *Juniperus communis* ve *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliklerinin istatistiksel karşılaştırılması

p*	1 µl/ml	5 µl/ml	50 µl/ml	100 µl/ml	250 µl/ml	500 µl/ml
24. saat	0,05	0,05	0,05	0,827	0,275	0,05
48. saat	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

* Mann Whitney U

Çizelge 4.66 incelendiğinde; *Juniperus communis* ve *Eucalyptus globulus* karşılaştırıldığında 24. saatte 100 ve 250 µl/ml konsantrasyonlarında 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. 24. saate tüm konsantrasyonlarda *Juniperus communis* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde toksisite oranı anlamlı olarak daha yüksek bulunurken, 48. saate tüm konsantrasyonlarda *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde toksisite oranı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu durumda, *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisi *Eucalyptus globulus* 'a kıyasla ilk 24 saatten sonra azalmaktadır.

H. pylori'ye karşı antimikrobiyal etkileri bulunan bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT ve LDH yöntemleri ile ölçülen canlılık oranı ve sitotoksiste etkilerinin absorbans ve istatistik değerleri birlikte Çizelge 4.67-4.70'de verilmiştir.

Çizelge 4.67. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının absorbans değerleri

HÜCRE YÖNTEM	HUVEC							
	MTT (24 saat)				MTT (48 saat)			
BİTKİ Doz (µl/ml)	<i>E. Globulus</i>	<i>J. communis</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>E. Globulus</i>	<i>J. communis</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>T. vulgaris</i>
1	0,595	0,771	0,835	0,164	0,67	0,542	0,601	0,447
5	0,583	0,704	0,75	0,109	0,596	0,454	0,527	0,271
50	0,621	0,6	0,733	0,071	0,573	0,538	0,406	0,116
100	0,634	0,492	0,738	0,075	0,411	0,191	0,397	0,147
250	0,644	0,237	0,736	0,087	0,357	0,116	0,123	0,145
500	0,645	0,177	0,168	0,103	0,172	0,132	0,139	0,134
Kontrol	Kontrol		Blank		Kontrol		Blank	
	0,652		0,102		0,684		0,097	

Çizelge 4.67. incelendiğinde kontrol grubunda canlı hücreler blankte ise hücre bulunmamaktadır. Kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde; *Thymus vulgaris*'in 24. ve 48. saatlerde HUVEC hücre dizisi üzerinde canlılık oranını diğer yağlara oranla oldukça azalttığı gözlenmektedir. Bunun yanında diğer yağların hücre dizisi üzerindeki canlılık oranları 48. saate kıyasla 24. saatte daha yüksek olarak saptanmıştır. *Eucalyptus globulus*'un hücre dizisi üzerindeki canlılık oranları diğer yağlarla kıyaslandığında en yüksek değerlerde saptanmıştır.

Çizelge 4.68. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen canlılık oranlarının istatistiksel değerleri

HÜCRE/ YÖNTEM	HUVEC/ MTT														
	24		48		24		48		P ²	24		48			
SAAT															
BİTKİ															
Doz (µl/ml)	<i>E. Globulus</i>	<i>E. Globulus</i>	P ²		<i>J. Communis</i>	<i>J. Communis</i>	P ²		<i>R. Officinalis</i>	<i>R. Officinalis</i>	P ²		<i>T. vulgaris</i>	<i>T. vulgaris</i>	P ²
1 (n:3)	0,90 ± 0,01	0,97 ± 0,01	< 0,001*		1,21 ± 0,06	0,75 ± 0,01	< 0,001*		1,33 ± 0,08	0,86 ± 0,02	< 0,001*		0,26 ± 0,13	0,11 ± 0,08	0,005*
5 (n:3)	0,87 ± 0,02	0,85 ± 0,01	< 0,001*		1,10 ± 0,03	0,60 ± 0,01	< 0,001*		1,18 ± 0,06	0,73 ± 0,01	< 0,001*		0,13 ± 0,10	0,13 ± 0,08	0,005*
50 (n:3)	0,94 ± 0,02	0,81 ± 0,06	< 0,001*		0,90 ± 0,24	0,75 ± 0,01	> 0,05		1,15 ± 0,06	0,53 ± 0,01	< 0,001*		0,35 ± 0,06	0,13 ± 0,08	< 0,001*
100 (n:3)	0,96 ± 0,02	0,53 ± 0,01	< 0,001*		0,70 ± 0,15	0,15 ± 0,02	< 0,001*		1,15 ± 0,07	0,51 ± 0,01	< 0,001*		0,38 ± 0,03	0,26 ± 0,20	0,23
250 (n:3)	0,98 ± 0,01	0,44 ± 0,01	< 0,001*		0,25 ± 0,04	0,03 ± 0,01	< 0,001*		1,15 ± 0,02	0,04 ± 0,02	< 0,001*		0,41 ± 0,02	0,41 ± 0,20	0,35
500 (n:3)	0,98 ± 0,02	0,12 ± 0,01	< 0,001*		0,14 ± 0,02	0,06 ± 0,01	< 0,001*		0,12 ± 0,01	0,07 ± 0,01	< 0,001*		0,46 ± 0,07	0,46 ± 0,11	0,89
P ¹	0,021*	0,012*			0,012*	0,01*			0,079	0,01*			< 0,001*	< 0,001*	

P¹: Friedman

P²: Mann-Whitney U

*: İstatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.68. incelendiğinde; *Rosmarinus officinalis*'in farklı konsantrasyonlarının 24. saatte HUVEC hücre dizisinin canlılık oranında anlamlı bir fark oluşturmadığı saptanmıştır. 48. Saatte ise konsantrasyon arttıkça canlılık oranında anlamlı bir azalma saptanmıştır. *Eucalyptus globulus*'un 24. saatte konsantrasyonları arttıkça HUVEC hücre dizisi canlılık oranında artış saptanırken 48. saatte konsantrasyonları arttıkça canlılık oranında azalma saptanmıştır. *Juniperus communis*'in 24. ve 48. saatlerde konsantrasyonları arttıkça HUVEC hücre dizisi canlılık oranını azalttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 50 µl/ml konsantrasyonunda HUVEC hücre dizisinin canlılık oranında anlamlı bir fark oluşturmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.69. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin absorbans değerleri

HÜCRE	HUVEC								
YÖNTEM	LDH (24 saat)					LDH (48 saat)			
	<i>E. Globulus</i>	<i>J. communis</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>T. vulgaris</i>		<i>E. Globulus</i>	<i>J. communis</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>T. vulgaris</i>
BİTKİ									
Doz (µl/ml)									
1	0,623	0,478	0,544	1,799		1,639	0,328	0,459	0,142
5	0,642	0,506	0,65	1,73		1,672	0,525	0,806	1,38
50	0,726	0,535	0,676	1,962		1,862	0,613	1,205	1,175
100	0,638	0,643	0,71	1,951		2,541	0,927	1,604	2,11
250	0,681	0,703	1,466	1,966		2,031	0,985	2,059	2,221
500	0,68	1,803	1,912	2,244		2,471	1,826	2,344	2,628
Kontrol	Pozitif K.		Negatif K.			Pozitif K.		Negatif K.	
	2,998		0,356			3,186		1,12	

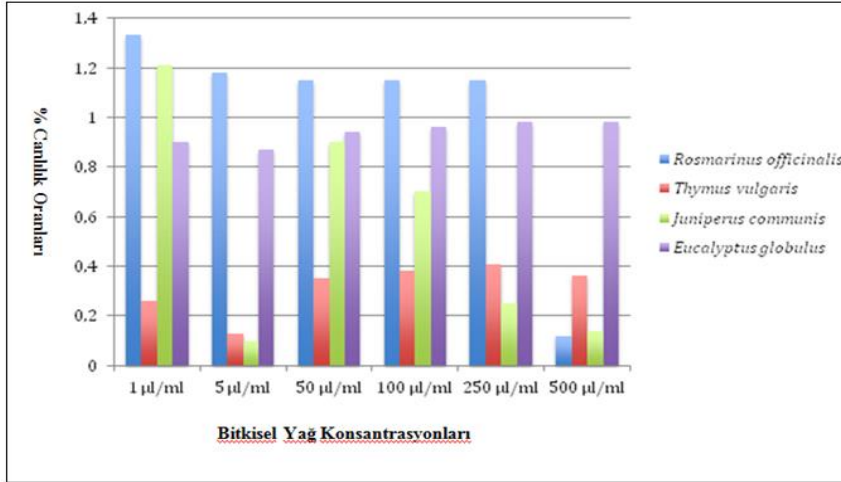
Çizelge 4.69. incelendiğinde; pozitif kontrol grubunda ölü hücreler, negatif kontrol grubunda ise canlı hücreler bulunmaktadır. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında *Thymus vulgaris*'in 24. ve 48. saatlerde artan konsantrasyonlara bağlı olarak HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin oldukça arttığı gözlenmiştir. Bunun yanında *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis* yağlarının da 48. saatte HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkilerinin 24. Saatteki etkilerine oranla arttığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.70. *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen sitotoksik etkinliğinin istatistiksel değerleri

HÜCRE/ YÖNTEM	HUVEC/ LDH											
	24		48		P ²		24		48		P ²	
SAAT	E. Globulus		E. Globulus		P ²		J. Communis		J. Communis		P ²	
BİTKİ	E. Globulus		E. Globulus		P ²		J. Communis		J. Communis		P ²	
Doz (µl/ml)	E. Globulus		E. Globulus		P ²		J. Communis		J. Communis		P ²	
1 (n:3)	0,11 ± 0,01	0,25 ± 0,01	< 0,001*	0,15 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05*	0,18 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,05*	0,60 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05*
5 (n:3)	0,11 ± 0,01	0,26 ± 0,01	< 0,001*	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,5	0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,05*	0,57 ± 0,01	0,43 ± 0,10	0,05*
50 (n:3)	0,14 ± 0,01	0,35 ± 0,01	< 0,001*	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,05*	0,22 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,05*	0,65 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,05*
100 (n:3)	0,10 ± 0,01	0,68 ± 0,17	< 0,001*	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,05*	0,23 ± 0,20	0,50 ± 0,01	0,05*	0,65 ± 0,01	0,66 ± 0,01	0,27
250 (n:3)	0,12 ± 0,01	0,44 ± 0,01	< 0,001*	0,23 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,05*	0,48 ± 0,01	0,64 ± 0,02	0,05*	0,65 ± 0,01	0,46 ± 0,40	0,5
500 (n:3)	0,12 ± 0,01	0,65 ± 0,01	< 0,001*	0,60 ± 0,01	0,57 ± 0,01	0,12	0,63 ± 0,01	0,73 ± 0,02	0,05*	0,74 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,05*
P ¹	0,024*	0,019*		0,012*	0,01*		0,026*	0,01*		0,017	0,055	

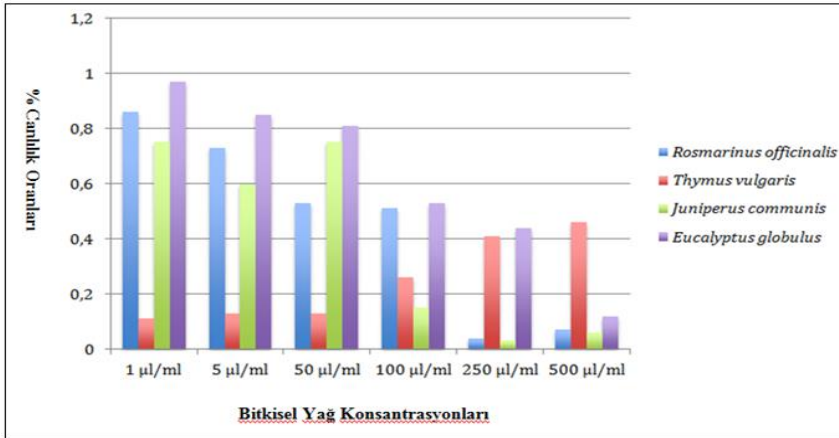
Çizelge 4.70. incelendiğinde; *Eucalyptus globulus*'un 24. saatte 1, 5 µl/ml ile 250, 500 µl/ml konsantrasyonlarında toksik etkinin değişmediği gözlenirken, 48. saatte 250, 500 µl/ml konsantrasyonlarında HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkinin azaldığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler karşılaştırıldığında ise *Eucalyptus globulus*'un HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek değerlerde olduğu saptanmıştır. *Juniperus communis*'in 24. ve 48. saatlerde konsantrasyonu arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 5, 500 µl/ml konsantrasyonlarında HUVEC hücre dizisinin canlılık oranında anlamlı bir fark oluşturmadığı saptanmamıştır. 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında 48. saatte *Juniperus communis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisi daha yüksek olarak saptanmıştır. *Rosmarinus officinalis*'in 24. ve 48. saatlerde konsantrasyonu arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır. 24. ve 48. saatler kıyaslandığında ise, 1 µl/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerindeki toksik etkisinin 48. saatte daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiği tespit edilen *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT ve LDH yöntemleri ile değerlendirilen etkinliklerinin karşılaştırılmasının grafikleri şekil 4.2-4.5'de verilmiştir.



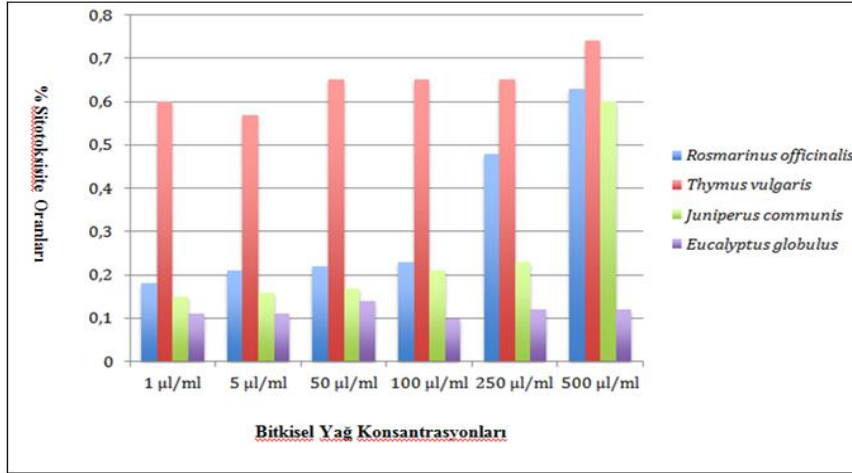
Şekil 4.3. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % canlılık oranlarının karşılaştırılması

Şekil 4.2’de; bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilen 24. saatteki canlılık oranları gösterilmiştir. Bu durumda, 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonda *Rosmarinus officinalis*, 500 µl/ml konsantrasyonda *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde 24. saatteki canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır.



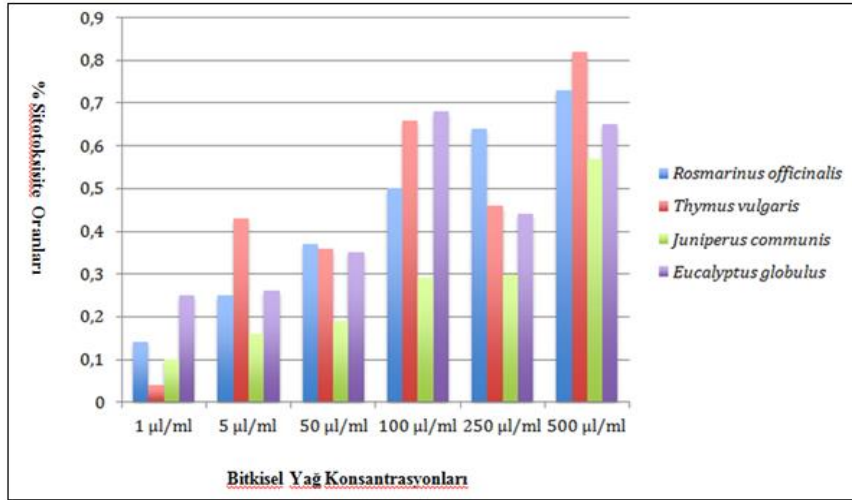
Şekil 4.4. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki MTT yöntemi ile ölçülen 48. saatteki % canlılık oranlarının karşılaştırılması

Şekil 4.3’de, bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilen 48. saatteki canlılık oranları gösterilmiştir. Bu durumda, 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus*, 500 µl/ml konsantrasyonunda *Thymus vulgaris* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde 48. saatteki canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır.



Şekil 4.5. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % sitotoksosite oranlarının karşılaştırılması

Şekil 4.4'de, bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile değerlendirilen 24. saatteki sitotoksosite oranları gösterilmiştir. Bu durumda, tüm konsantrasyonlarda *Thymus vulgaris* HUVEC hücre dizisi üzerinde 24. saatteki en yüksek sitotoksositeye sahip bitkisel yağ olarak saptanmıştır.



Şekil 4.6. *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerindeki LDH yöntemi ile değerlendirilen 48. saatteki % sitotoksosite oranlarının karşılaştırılması

Şekil 4.5'de, bitkisel yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile değerlendirilen 48. saatteki toksisite oranları gösterilmiştir. Bu durumda; 1, 100 µl/ml konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus*, 5, 500 µl/ml konsantrasyonlarında *Thymus vulgaris*, 50, 250 µl/ml konsantrasyonlarında ise *Rosmarinus officinalis* HUVEC hücre dizisi üzerinde 48. saatteki en yüksek toksisiteye sahip bitkisel yağlar olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı bakterinin giderek artan oranda direnç geliştirdiği rapor edilmiştir. Bakterinin oral kavitedeki kolonizasyonu da eradikasyon oranını düşürmektedir. Eradikasyon sonrasında gözlenen gastrik reinfeksiyonlar da tedavide engel teşkil etmektedir. Bu durum gelişmiş batı ülkelerinde, tedavideki başarının kabul edilemez oranlarda düştüğü yönünde bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda *H. pylori* tedavisindeki başarı oranlarının oldukça düşük olduğu rapor edilmiştir. Buna göre bir çalışmada, bir haftalık üçlü tedavi ile eradikasyon oranı % 46, diğer bir çalışmada ise iki hafta uygulanan üçlü tedavi ile bu oran % 56 olarak rapor edilmiştir. Reenfeksiyon riski ise % 2,5 ile % 40 arasında değişen oranlarda rapor edilmiştir [276]. Direnç ile baş edebilmek için tedavide antibiyotiklerin dozu arttırılarak uygulanmış ancak her antibiyotiğin yüksek dozlarda etkili olmadığı ve bunun yanı sıra yüksek dozlarda ilaç kullanımının da hastalar açısından istenmeyen yan etkilere yol açtığı gözlenmiştir. Tedavide karşılaşılan bu problemler araştırmacıları tedaviyi destekleyici yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesine yöneltmiştir. *H. pylori*'ye karşı yeni anti bakteriyel ilaçların, özellikle bitkisel kaynaklı ilaçların araştırılmasına son yıllarda giderek daha fazla önem verilmektedir. Bu nedenle tedavinin başarı oranının yükselmesi ve rekürrensünün azalması için, toksik olmayan biyoyumlu bitkisel kaynakların araştırılarak sistemik antibiyotik tedavisine ek olarak kullanılması ve eradikasyonun sağlanması son derece önemlidir. Bitkisel yağlar, eski çağlardan günümüze kadar tedavide kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadır. Kullanım amaçları göz önünde bulundurularak bu bitkisel yağlar üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar sonucunda bazı biyolojik etkinlikleri bilimsel olarak da açıklanmıştır. Geniş kullanım alanına sahip olan bitkisel yağlar son yıllarda pek çok bilim adamının ilgi konusu olmuş ve yapıları incelenerek biyolojik ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır [11]. Bu nedenle çalışmamızda; genellikle mide ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına iyi geldiği bilinen ve literatürde *H. pylori* üzerinde yapılmış yeterli çalışması bulunmayan çeşitli bitkisel yağlar seçilmiş ve *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri mikrodilüsyon tekniği ile ve HUVEC hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkileri ise MTT ve LDH yöntemleri ile incelenmiştir. Çalışmamızda test ettiğimiz 13 bitkisel yağın *H.pylori*'ye karşı antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması sonucu, bitkisel yağlardan 4 tanesinin anlamlı anti *H.pylori* aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Bitkisel yağlar 45-0,35 (% v/v) arasındaki konsantrasyonlarda test edildiğinde *Eucalyptus globulus*'un MİK değeri 2,81, MBK değeri 5,62, *Juniperus communis*'in MİK değeri 0,35,

MBK değeri 0,70, *Rosmarinus officinalis*'in MİK değeri 2,81, MBK değeri 5,62, *Thymus vulgaris*'in MİK değeri 0,70, MBK değeri 1,40 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda test ettiğimiz diğer bitkisel yağların test edilen *H. pylori* suşu üzerine anlamlı antibakteriyel etkisi gözlenmemiştir (Çizelge 4.1). Çalışmamızda kullandığımız bitkisel yağların *H. pylori* üzerine olan etkisini değerlendiren daha önceki çalışmalar literatürde kapsamlı olarak araştırılmıştır. Literatür araştırmamız sonucunda bugüne kadar *Anemone sp.*, *Linum usitatissimum* ve *Ricinus communis*'in *H.pylori* üzerine etkisini araştıran bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bunun yanında, çalışmamızda test ettiğimiz diğer on bitkisel yağ ile ilgili literatür bilgileri aşağıda tartışılmıştır.

Konstantinopoulou ve arkadaşları [277], *Anthemis altissima*'nın aerial kısımlarının lipofilik ekstresinden 7 adet sesquiterpen lakton, 10 adet bilinen flavonoid ve bir fenolik asit izole etmişlerdir. Sesquiterpen laktonlardan ikisinin (sivasinolide ve tatrudin-A) *H. pylori* 'ye karşı aktivite gösterdiğini (MİK değerleri her iki molekül için 12,5 µg/mL) bulmuşlar ve bu çalışmalarını sesquiterpen laktonların potansiyel anti *H. pylori* aktivitesini gösteren ilk çalışma olarak rapor edilmiştir.

Weseler ve arkadaşları [278], doğal bileşiklerin anti *H. pylori* aktivitesini test etmek için gerekli standardize metodların bulunmaması gerekçesiyle, gastrointestinal hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan 15 esansiyel yağa karşı yavaş üreyen bakterilerin duyarlılığını araştıran bir broth mikrodilüsyon yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışılan 15 yağın tümünün *H. pylori* suşu üzerine etkisi gösterilmişse de, *H. pylori* çoğalmasını en yüksek düzeyde inhibe eden papatya yağı (*chamomile*), portakal çiçeği yağı ve zencefil yağı beklenmedik derecede düşük konsantrasyonlarda (MİK değerleri 0,0038-0,0075 % v/v ve sırayla 38-70 µg/mL) anti *H. pylori* etkisi göstermiştir. MBK değerlerinin ise MİK değerlerinden 1-2 dilüsyon basamağı daha yüksek değerlerde bulunduğu rapor edilmiştir. Stamatis ve arkadaşları [279], 70 Yunan bitkisinin % 70'lik metanol ekstralarının ve halk arasında peptik ülser gibi rahatsızlıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılan, ticari olarak satılan bazı bitkilerin anti *H. pylori* etkinliklerini araştırmışlardır. Bu bitkilerden *Anthemis melanolepis* (MİK: 0,625), *Cerastium candidissimum* (MİK: 0,625), *Chamomilla recutita* (MİK: 0,625), *Conyza albida* (MİK: 0,625), *Dittruchra viscosa* (MİK: 1,25), *Origanum vulgare* (MİK: 0,625) ve *Stachys alopecuros*'un (MİK: 0,625) 1 standart *H. pylori* suşu ve 15 klinik *H. pylori* izolatu üzerine etkili olduğunu göstermişlerdir.

Anthemis türüne ait bitkiler ile yapılan bu çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda *Anthemis nobilis* cinsi bitkinin uçucu yağı kullanılmıştır ancak diğer çalışmalar *Anthemis* türünün farklı cinsleri ve bitkiden elde edilen izole bileşikler ile çalışılmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçlarında oluşan farklılıkların, bu çalışmalarda bitkinin farklı cinsleri ve izole bileşiklerinin kullanılmış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda *Anthemis nobilis* uçucu yağının *H. pylori* üzerine antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

Rozza ve arkadaşları [280], *Citrus lemon* (*Rutaceae*) esansiyel yağı ve bunun temel bileşikleri olan 2 terpenin (limonen ve β -pinene) gastroprotektif mekanizmalarını araştırmışlar ve esansiyel yağ ve bileşiklerinin in vitro olarak *H. pylori* 'ye karşı MİK değerlerini belirlemişlerdir. Antibakteriyel etkiyi broth mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. *Citrus lemon* ve limonene'in MİK değerleri sırayla 125 ve 75 $\mu\text{g/mL}$ iken β -pinene'in MİK değeri çok yüksek bulunmuştur (500 $\mu\text{g/mL}$). Literatürde 250 $\mu\text{g/mL}$ ve altındaki MİK değerlerinin doğal ürünler için dikkat çekici bir sonuç olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle *Citrus lemon* ve limonene'in tatmin edici bir anti *H. pylori* aktivitesi olduğu saptanmıştır ve *H. pylori* 'nin gastrik ülser gelişiminde önemli bir faktör olduğu göz önünde tutulduğunda *Citrus lemon* ve limonene'in antiülser tedavisinde antibakteriyel tedaviyi kuvvetlendirecek bir yardımcı olarak uygulanabileceği sonucuna varmışlardır.

Güzeldağ ve arkadaşları [265], *Citrus unshiu*, *Citrus sinensis*, *Citrus limon*, *Laurus nobilis* ve *Citrus paradisi*'nin hekzan ve aseton ekstralarının antimikrobiyal potansiyellerini *H. pylori* klinik suşu üzerinde araştırmışlardır. Ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri agar well difüzyon ve MİK metotları ile değerlendirilmiştir. Agar well difüzyon metodunda tüm ekstralar *H. pylori* 'ye karşı potent etki göstermiştir. Aseton ekstresi varlığında maksimum inhibisyon zonu çapı 50 mg/mL konsantrasyonda *C. cinensis* için $27 \pm 0,2$ mm ve *C. unshiu* için $26 \pm 0,3$ mm olarak belirlenmiştir. *C. limon* 100 mg/mL konsantrasyonda 30 mm çap ve 200 mg/ml konsantrasyonda *C. paradisi* $29 \pm 0,3$ mm ve *L. nobilis* $24 \pm 0,3$ mm inhibisyon çapı göstermiştir. Heksan ekstralarında 50 mg/mL 'de *C. cinensis*'in inhibisyon zonu çapı $27 \pm 0,2$ mm ve *C. unshiu*'nun ise 25 mm olarak bulunmuştur. *L. nobilis* ve *C. paradisi*'nin 200 mg/mL'de inhibisyon zonu çapları sırayla $26 \pm 0,1$ mm ve $24 \pm 0,5$ mm olarak bulunmuştur. *C. limon*'un hekzan ekstresinin hiçbir konsantrasyonda etkisi gözlenmemiştir. *C. cinensis*'in hem aseton hem de hekzan ekstralarının 1:512

dilüsyonda *H. pylori* çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. *C. unshiu* aseton ekstresi 1:1024 dilüsyonda, heksan ekstresi ise 1:512 dilüsyonda MİK değeri göstermiştir. *C. paradisi*'nin aseton ekstresi 1:1024 dilüsyonda, heksan ekstresi 1:4096 dilüsyonda MİK değeri göstermiştir. *C. limon*'un heksan ekstresi 1:1024, aseton ekstresi 1:2048 dilüsyonlarında *H. pylori* üzerine etkili iken, *L. nobilis* heksan ekstresinin 1:2048, aseton ekstresinin 1:4096 dilüsyonda etkili olduğu bulunmuştur. MİK değerlerine göre test edilen bitkilerin tümünün fırsatçı ajanlar olarak *H. pylori* ye karşı aseton ve heksan ekstreleri ile in vitro etki gösterdiği rapor edilmiştir. Test edilen bitkilerde *H. pylori* 'ye karşı inhibisyon zonları 24-30 mm olarak hesaplanmış ve inhibisyon zonlarına bakıldığında aseton ekstrelerinin hafif derecede daha yüksek aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. *C. cinensis*'in heksan/aseton ekstrelerinin 1:512 dilüsyonla MİK değerlendirmesi, bu ekstrelerin dilüsyonlarının *H. pylori* 'ye karşı inhibitör ajan olarak rol oynayabileceğini göstermiştir.

Mandalari ve arkadaşları [281], yayınladıkları derlemede, citrus meyvelerinin *H. pylori* üzerine olan etkisi ile ilgili yapılan çalışmaları değerlendirmişlerdir. Bu derlemeye göre; Filocamo ve arkadaşları 2015 yılında bergamut suyunun (*Citrus bergamia*) cagA (+) ve cagA (-) *H. pylori* klinik izolatları üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında % 2,5 (v/v) bergamut suyunun klinik izolatların çoğalmasını % 50 oranında inhibe ettiğini, % 5'lik bergamut suyunun ise *H. pylori* canlılığını % 90'a düşürmüş olduğunu göstermişlerdir.

Gastrit benzeri bozuklukların tedavisinde sıklıkla kullanılan 30 Çin bitkisel ilacının standart ve 5 klinik *H. pylori* izolatı üzerinde antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada *Citrus reticulata*'nın MİK değeri 60 µg/mL'ye yakın bulunmuştur [282].

Citrus türüne ait bitkiler ile yapılan bu çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı olarak; bitkilerin uçucu yağlarının temel bileşenleri, heksan ve aseton gibi ekstreleri ve Citrus türünün farklı cinsleri çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda *Citrus* türünün *limonium* ve *sinensis* cinslerine ait uçucu yağlar ile çalışılmıştır. Ancak bu uçucu yağların *H. pylori* üzerine herhangi bir antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

Bakkir ve arkadaşları [283], bitki kaynaklı bileşiklerin *H. pylori* çoğalmasına olan etkilerini in vitro ortamda araştırmışlardır. Hindistan cevizi (*Cocos nucifera*) ve susam yağı % 25, % 50, % 75 ve % 100 konsantrasyonlarda hazırlanmış ve kronik gastritli ve pozitif

hızlı üreaz testi olan hastaların *H. pylori* izolatları üzerinde ayrı ayrı ve beraber olarak test edilmiştir. Kontrol olarak Heksan % 40 (w/v) kullanılmıştır. Sonuçlar dilüe edilmemiş koşullarda her iki yağın da *H. pylori* çoğalmasını inhibe ettiğini, bu etkinin hindistan cevizi yağında susam yağına oranla daha fazla olduğunu göstermiş ve sırasıyla 26 mm ve 9 mm inhibisyon zonları rapor edilmiştir. Dilüsyon sonrası hindistan cevizi yağı % 25, % 50 ve % 75 konsantrasyonlarda 16,20 ve 22 mm inhibisyon zonları ile anti *H. pylori* aktivitesine devam ederken, susam yağının inhibe edici etkisi kaybolmuştur. İki yağ karıştırıldığında ise % 75 ve % 100 konsantrasyonlarda sırasıyla 28 mm ve 24 mm inhibisyon zonları görülürken, kontrol heksan solüsyonunda aktivite izlenmemiştir. Sonuç olarak Hindistan cevizi yağı yüksek konsantrasyonlarda ya da hindistan cevizi yağının susam yağı ile karışımı, in vitro ortamda *H. pylori* çoğalmasını inhibe etmesi açısından susam yağına oranla daha üstün bulunmuş ve peptik ülser tedavisindeki potansiyel rolü vurgulanmıştır.

Cocos nucifera bitkisi ile yapılan bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak; *H. pylori*' ye karşı antimikrobiyal etki MİK değeri yerine inhibisyon zon çapı ölçülerek değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise antimikrobiyal etki MİK ve MBK değerleri ölçülerek çalışılmıştır. Ancak bizim çalışmamızda *Cocos nucifera* sabit yağının *H. pylori* üzerine herhangi bir antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

Esmaili ve arkadaşları [284], *Tyhmus vulgaris* ve *Eucalyptus globulus*'un esansiyel yağlarının anti *H. pylori* aktivitelerini araştırmışlardır. Anti *H. pylori* aktivitesini agar difüzyon metodu ile değerlendirdikleri çalışmalarında *T.vulgaris* ve *E.globulus* için anti *H. pylori* aktiviteleri sırasıyla 10,8 ve 46,4 µg/mL olarak saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar, *T. vulgaris*'in *E.globulus*'a göre *H. pylori* 'ye karşı daha iyi bir inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamızda da Esmaili ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak *T.vulgaris* ve *E.globulus*'un *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdikleri ve aynı zamanda *T.vulgaris*'in *E.globulus*'a oranla daha iyi bir inhibitör etkisi olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Parreira ve arkadaşları [285], çok sayıda biyolojik bileşiğin *H. pylori* 'ye karşı yeni ya da destekleyici tedavi açısından ümit verici adaylar olduğunu ve bunların içinden en önemlilerinin triterpenik asitler (TA) olduğunu vurgulamışlardır. Anti *H. pylori* 'ye karşı

etkili doğal TA arayışı içerisinde *Eucalyptus nitens* ve *Eucalyptus globulus*'un dış kabuk fraksiyonlarının betulinic (BA), ursolic (UA), betulonic (BOA) ve oleanolic asit adlı TA'ların ve bunların asetile formları olan 3-O-asetilbetulinic, 3-O-asetiloleanolic ve 3-O-asetilursolik asit açısından zengin bir kaynak olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında bu *Eucalyptus spp* dış kabuk TA'lerinden zengin ekstreleri, cagA statüsüne göre farklı derecelerde virulansa sahip *H. pylori* suşları üzerinde denemişlerdir. *Eucalyptus spp.* dış kabuk ekstrelerinin tanımlanması ve içeriğindeki TA bileşimi ayrıştırıldığında toplam TA içeriği açısından *E.nitens* dış kabuk ekstresinin *E.globulus* ekstresinden 9 kat daha zengin olduğunu ortaya koymuşlardır. *E. Nitens* ve *E. Globulus* dış kabuk ekstreleri, TA sentetik karışımları ve saf TA'ların biyolojik aktiviteleri farklı cagA statüsüne sahip 4 *H. pylori* suşuna karşı değerlendirilmiş ve MİK, MBK değerleri hesaplanmıştır. *E. nitens* dış kabuk ekstreleri genel olarak *E. globulus* ekstresinden daha iyi performans göstermiştir (MİK 64 µg/mL'ye karşı 256 µg/mL). *E. nitens* ekstresinin *H. pylori* 101UK suşuna karşı MİK değerinin 512 µg/mL olması bu durumun tek istisnası olarak gösterilmiştir. Saf TA'lardan UA en iyi anti *H. pylori* aktivitesini göstermiş (MİK: 512 µg/mL) ve aynı zamanda UA, *H. pylori* suşundan bağımsız olarak bakterisidal aktivite göstermiştir (MBK: 1024 µg/mL). Araştırmacılar izole saf bileşiklerin hiçbirinin tek başına ya da kombine olarak bütün *Eucalyptus spp.* dış kabuk ekstrelerinden daha aktif olmadığını göstermişlerdir. En iyi sonuçlar *E. nitens* dış kabuk ekstreleri ile elde edilmiştir. İnhibe edici etki 48 saatlik maruziyet sonrası maximum seviyeye ulaşmıştır.

Bizim çalışmamızda da Parreira ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak *E. globulus*'un *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Ancak Parreira ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda *E.globulus*'un uçucu yağı kullanılarak antimikrobiyal etki değerlendirilmiştir. Parreira ve arkadaşları *E. globulus*'un dış kabuk ekstreleri ve bunlardan izole edilen triterpanik asitlerinin, biyolojik aktiviteleri farklı cagA statüsüne sahip 4 *H. pylori* suşuna karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır.

Nakanishi ve arkadaşları [286], *Juniperus communis var. depressa (cupressaceae)*'nın yapraklı dallarından bir yeni monoterpen glukozid (1 numaralı bileşik) ve 3 yeni doğal megastigmane glikozid (2-4 numaralı bileşikler) ile önceden bilinen bir megastigmane glukozid (5 numaralı bileşik) izole etmişler ve bu izole ettikleri bileşiklerin *H. pylori* 'ye karşı antibakteriyel aktivitelerini araştırmışlardır. Üç ayrı *H. pylori* suşuna karşı bileşiklerin

aktiviteleri MİK değeri ölçümü ile test edildiğinde, yeni megastigman glukozidlerden biri (no 3) pozitif kontrol olarak kullanılan doğal ve sentetik hinokitrol ile karşılaştırılacak ölçüde kuvvetli inhibisyon (MİK: 50 µg/mL) göstermiştir. Yeni monoterpen glukozid (no 2)'de hafif düzeyde anti *H. pylori* aktivitesi göstermiştir (MİK: 100 µg/mL). Bilinen megastigman glukozid (no 5) ise aktivite göstermemiştir (MİK >200 µg/mL). Araştırmacılar bileşik 1,2 ve 3 gibi alt terpenlerin glukozidlerinin ilk defa olarak potent ya da hafif derecede anti *H. pylori* aktivitesi olduğunu rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da Naganishi ve arkadaşları çalışması ile uyumlu olarak *Juniperus communis*'in *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Ancak Naganishi ve arkadaşları çalışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda *Juniperus communis*'in uçucu yağı kullanılarak antimikrobiyal etki araştırılmıştır, Naganishi ve arkadaşları *Juniperus communis*'in yapraklı dallarından izole ettikleri yeni bileşiklerin *H. pylori* suşuna karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır.

Mahady ve arkadaşları [287], dispepsi, kronik gastrit ve gastrik karsinom gibi gastrointestinal yakınmalarda geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan 24 farklı bitkisel türün metanol ekstralarının etkinliğini 15 farklı *H. pylori* suşu üzerinde test etmişlerdir. *H. pylori*'ye karşı en etkili ekstralar *Myristica fragrans* (MİK: 12,5 µg/mL), *Zinziber officinale* ve *Rosmarinus officinalis* (MİK: 25 µg/mL, her ikisi için) olarak rapor edilmiştir. *Juniperus communis* ve *Lavandula angustifolia*'nın ekstralarının aktiviteleri de zayıf olarak saptanmıştır (MİK: 100 µg/mL).

Mahady ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da *Rosmarinus officinalis* ve *Juniperus communis*'in *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir. Ancak bizim çalışmamızda *Lavandula angustifolia*'nın etkisi gözlenmemiştir. Mahadi ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda *Juniperus communis*'in *Rosmarinus officinalis*'e oranla daha etkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Martini ve arkadaşları [288], Cag A+ *H. pylori* suşlarının daha fazla ciddi gastrik inflamasyon, atrofik gastrit ve non-kardiya gastrik adenokarsinom ile ilişkili olduğunu vurgulamışlar ve üç farklı üzüm çeşidinin (*sangiovese*, *colorino* ve *cabernet saubignon*) hidroalkolik ekstralarının ve şarapta bulunan bazı bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini *H. pylori* 10K (cag A+) ve *H. pylori* G21 (cagA -) suşları

üzerinde test etmişlerdir. G21 suşuna karşı en yüksek aktiviteyi colorino ekstresi göstermiştir (MBK: 1,35 µg/mL). Sangiovese ve cabarnet'in MBK değeri 4,0 µg/dL olarak belirlenmiştir. Cag A+ *H. pylori* 10K suşu sadece colorino'ya karşı 48 saat sonra duyarlı bulunmuştur (MBK: 3,57 µg/MI). İzole bileşiklerden *H. pylori* suşlarına karşı en yüksek antibakteriyel aktivite gösteren resveratrol olarak rapor edilmiştir. 48 saatlik inkübasyon sonrası G21 için MBC değeri 17 µg/mL, 10K suşu için ise 47,17 µg/mL bulunmuştur. Araştırmacılar cagA+ *H. pylori* suşu olan 10K'nın üzüm ekstreleri ve bileşiklerine daha az duyarlı olduğunu belirtmişler ve bu fenomenin mide kanserli hastaların cagA+ organizmalarla daha fazla enfekte olması ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Brown ve arkadaşları [289], farklı üzüm ekstrelerinin *H. pylori* 'ye karşı etkinliklerini ve ekstrenin fenolik bileşikleri ile anti *H. pylori* aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Kırmızı, beyaz ve siyah üzüm kabuğu, misket üzümü kabuğu, misket üzümü çekirdeği ve misket üzümü kabuk ve çekirdeği (sinerji) ile saf bileşikler olan resveratrol, ellagic asit ve myricetin'in farklı *H. pylori* suşlarının çoğalması üzerine olan MİK değerlerini agar dilüsyon yöntemi ile test ettiklerinde, en etkili ekstrenin misket üzümü kabuğu (MİK: 256-512 µg/mL), daha sonra misket üzümü çekirdeği (MİK: 256-1024 µg/mL) ve sinerji ekstresi (MİK: 512-1024 µg/mL) olduğunu saptamışlardır. Saf bileşiklerden resveratrol ve ellagic asit'de *H. pylori* 'yi inhibe ederken (MİK: 6,25-50 µg/mL), myricetin'in etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Yapılan tüm testlerde *H. pylori*'ye karşı en etkili misket üzümü kabuğu ekstresi olarak bulunmuştur. Misket üzümü çekirdeği daha fazla fenolik bileşik içerse de anti *H. pylori* aktivitesi kabuğa göre daha düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir. Bu durum daha yüksek fenolik seviyelerin mutlaka daha fazla anti *H. pylori* aktivitesi ile ilişkili olmayabileceğini göstermiştir. Misket üzümü kabuğunda en az bulunan fenolik bileşik olan resveratrolün cagA (+) *H. pylori* suşları üzerine inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma önceden düşünüldüğünün aksine anti *H. pylori* aktivitesinin mutlaka daha yüksek fenolik bileşik miktarı ile korele olmadığını göstermiştir. *Vitis* türüne ait yapılan bu çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı olarak üç farklı üzüm çeşidinin (*sangiovese*, *colorino* ve *caburnet saubignon*) hidroalkolik ekstreleri, farklı üzüm ekstrelerinin fenolik bileşiklerinin *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda kullanılan *Vitis vinifera* sabit yağının *H. pylori*'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

Eftekhar ve arkadaşları [290], *Thymus caramanicus*'un hidrodistilasyon yoluyla hazırladıkları esansiyel yağını analiz ettiklerinde ana bileşikler olarak % 68,9 carvacrol, % 6 p-cymene, % 5,3 thymol, % 4,6 γ -terpinene ve % 4,0 borneol içerdiğini bulmuşlardır. Esansiyel yağın in vitro antibakteriyel aktivitesi *H. pylori* 'nin 10 klinik izolatında disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiş ve MİK değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar disk difüzyon metodu ile tüm test bakterilerine karşı yüksek inhibitör aktivite varlığı (inhibisyon zonları 50,0 – 65,0 mm) göstermiştir. Klinik izolatların MİK değerleri 14,5 – 58,0 $\mu\text{g/mL}$ aralığında ölçülmüştür. Carvacrol'un MİK değeri 20-80 $\mu\text{g/mL}$ ve thymol'un MİK değeri 100-200 $\mu\text{g/mL}$ aralığında bulunmuştur. Esansiyel yağın anti *H. pylori* aktivitesi saflaştırılmış ajanların ikisinden de daha fazla bulunmuştur. Araştırmacılar *T.caramanicus*'un anti-*H. pylori* ajanları için değerli bir kaynak olabileceği kararına varmışlardır.

Bizim çalışmamızda Eftekhar ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak *Thymus* türünün *vulgaris* cinsinin *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve iyi bir inhibitör etkisi olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çalışmamızda *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisini araştırdığımız toplam 13 bitkisel yağdan *Eucalyptus globulus* (MİK: 2,81 % v/v, MBK: 5,62 % v/v), *Juniperus communis* (MİK: 0,35 % v/v, MBK: 0,70 % v/v), *Rosmarinus officinalis* (MİK: 2,81 % v/v, MBK: 5,62 % v/v) ve *Thymus vulgaris* (MİK: 0,70 % v/v, MBK: 1,40 %v/v) bitkisel yağlarının etkili olduğunu gözlemledik (Çizelge 4.1). Tıpta kullanım potansiyeli olacak olan bir ilacın beklenen etkiyi göstermesinin yanı sıra toksik etki göstermemesi de arzu edilen bir özelliktir. Bu bağlamda bir sonraki basamak olarak *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisini bulduğumuz yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde sitotoksik etkileri de çalışmamızda araştırılmıştır. Çalışmamızda; *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % canlılık oranları karşılaştırıldığında *Eucalyptus globulus*'un tüm konsantrasyonlarda uygulanması sonucu HUVEC hücre dizisinin canlılık oranının % 80'in üzerinde olduğu görülmüştür (Çizelge 4.25). *Rosmarinus officinalis*'in 500 $\mu\text{l/mL}$ 'ye kadar olan konsantrasyonlarda canlılık oranı % 100'ün üzerinde iken 500 $\mu\text{l/mL}$ konsantrasyonunda canlılık oranı % 20'nin altına indiği görülmüştür (Çizelge 4.45). *Juniperus communis*'in artan konsantrasyonlara yanıt olarak canlılık oranının belirgin olarak düştüğü gözlenirken (Çizelge 4.29), *Thymus vulgaris*'in tüm konsantrasyonlarında

HUVEC hücre dizisinin canlılığının belirgin oranda düşük olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.53). Bu durumda; 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonda *Rosmarinus officinalis*, 500 µl/ml konsantrasyonda *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde 24. saatteki canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır.

Yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde MTT yöntemi ile ölçülen 48. saatteki % canlılık oranları karşılaştırıldığında da *Eucalyptus globulus*'un 50 µl/mL konsantrasyonuna kadar canlılık oranının % 80'in üzerinde olduğu, daha yüksek dozlarda ise canlılık oranının belirgin şekilde % 50'nin altına indiği gözlenmiştir (Çizelge 4.25). *Rosmarinus officinalis*'in artan konsantrasyonlarına yanıt olarak canlılık oranının belirgin olarak düştüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.45). *Juniperus communis*'in 50 µl/mL konsantrasyonuna kadar canlılık oranı % 60-80'in arasında iken daha yüksek dozlarda ise canlılık oranının belirgin şekilde % 20'nin altına indiği gözlenmiştir (Çizelge 4.29). *Thymus vulgaris*'in tüm konsantrasyonlarında HUVEC hücre dizisinin canlılığı belirgin oranda düşük olmakla beraber, konsantrasyon artışı ile canlılık oranlarının % 20 değerlerinden % 40 değerlerine kadar artış gösterdiği kaydedilmiştir (Çizelge 4.53). Bu durumda; 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus*, 500 µl/ml konsantrasyonunda *Thymus vulgaris* ile muamele edilen HUVEC hücre dizisi üzerinde 48. saatteki canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır.

Eucalyptus globulus, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen 24. saatteki % sitotoksosite oranları karşılaştırıldığında ise *Thymus vulgaris*'in tüm konsantrasyonlarda en yüksek sitotoksositeye sahip olduğu, doz artışı ile beraber sitotoksosite oranlarının % 60'dan % 75'in üzerine çıktığı gözlenmiştir (Çizelge 4.51). *Juniperus communis* ve *Rosmarinus officinalis*'in sitotoksitesini artan konsantrasyonla beraber artış göstermiş ancak *Eucalyptus globulus*'un sitotoksitesini tüm konsantrasyonlarda en düşük seviyede gözlenmiş ve % 10-15 seviyesini aşmamıştır (Çizelge 4.23, Çizelge 4.27, Çizelge 4.43). Bu durumda, tüm konsantrasyonlarda *Thymus vulgaris* HUVEC hücre dizisi üzerinde 24. saatteki en yüksek sitotoksositeye sahip bitkisel yağ olarak saptanmıştır.

Yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde LDH yöntemi ile ölçülen 48. saatteki % sitotoksosite oranları karşılaştırıldığında ise tüm yağların artan konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinin belirgin seviyede arttığı gösterilmiştir. Bu durumda; 1, 100 µl/ml

konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus* (Çizelge 4.23), 5, 500 µl/ml konsantrasyonlarında *Thymus vulgaris* (Çizelge 4.51), 50, 250 µl/ml konsantrasyonlarında ise *Rosmarinus officinalis* (Çizelge 4.43) HUVEC hücre dizisi üzerinde 48. saatteki en yüksek toksisiteye sahip bitkisel yağlar olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları literatür değerleri ile karşılaştırmak amacıyla *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* yağlarının sitotoksisite değerlendiren daha önceki çalışmalar literatürde kapsamlı olarak araştırılmıştır. Bu dört bitkisel yağın sitotoksisite değerleri ile ilgili literatür bilgileri aşağıda tartışılmıştır.

Elaissi ve arkadaşları [291], 8 *Eucalyptus* türünün esansiyel yağlarının kimyasal bileşimini ve bunların antimikrobiyal aktiviteleri ile sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında sitotoksisite MTT kolorimetrik yöntemi ile vero hücre dizisi üzerinde değerlendirilmiştir. Vero hücreleri, *E.maidenii*, *E.sideroxylon* ve *E.cinerea* esansiyel yağlarına karşı dirençli olarak bulunmuştur (CC50 değerleri sırayla 253,5, 247,3 ve 204,5 mg/mL). *E.odorata*, *E.leucoxylon*, *E.lehmannii*, *E.astringens* ve *E.bicostata* ise farklı bir davranış göstermiştir ve bunların sitotoksisitesi belirgin derecede yüksek bulunmuştur (CC50 değerleri 6,2-16 mg/mL arasındadır) (CC50: % 50 sitotoksik konsantrasyon). En düşük sitotoksisite yüksek miktarda 1,8-cineole ve orta düzeyde α -pinene ve limonene içeren *E.maidenii*, *E.sideroxylon* ve *E.cinerea* gibi yağlarla gözlenmiştir. Yüksek derecede sitotoksik etki ise daha yüksek miktarda monoterpen α -pinene ve orta düzeyde 1,8-cineole içeren *E.lehmannii*, *E.astringens* yağları ile gözlenmiştir. Eski çalışmalarla kıyaslandığında bu çalışılan esansiyel yağların sitotoksisite değerleri çok düşük seviyede saptanmıştır. Bu nedenle bu yağların sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda güvenli olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Döll-Boscardin ve arkadaşları [292], *Eucalyptus benthamii*'nin genç ve olgun yapraklarının esansiyel yağlarının bazı ilişkili terpenlerin (α -pinene, terpinen-4-ol ve γ -terpinene), Jurkat (T lösemi hücreleri), J774A.1 (Fare makrofaj tümörü) ve HeLa (serviks kanseri) hücre hatları üzerine *in vitro* sitotoksik aktivitesini MTT ve LDH aktivitesi yöntemleri ile araştırmışlardır. *E.benthamii*'nin genç yapraklarının esansiyel yağına karşı Jurkat hücreleri (24. saatte IC50: 108,33 µg/mL, 72. saatte IC50: 56,51 µg/mL), J77A.1 hücrelerine kıyasla (24. saatte IC50: 287,98 µg/mL, 72. saatte IC50: 166,87 µg/mL) daha

duyarlı bulunmuştur. *E.benthaii*'nin olgun yaprakları da bu iki hücre dizisi üzerine benzer etki göstermiştir. HeLa hücrelerine olan sitotoksosite gözönünde tutulduğunda genç ve olgun *E.benthaii* uçucu yağlarının IC50 değerleri sırayla 24. saatte 84,23 ve 110,02 µg/mL ve 72. saatte 120,57 ve 101,90 µg/mL olarak bulunmuştur. Esansiyel yağın temel bileşeni olan α -pinene'in ise J774A.1 ve HeLa hücreleri üzerine hiç sitotoksitesi gözlenmemişken Jurkat hücreleri üzerine ise çok zayıf bir sitotoksik etkisi gözlenmiştir. Sonuç olarak bu bulgular, *E.benthaii*'nin izole edilen terpenler olan α -pinene ve γ -terpinene'den daha fazla sitotoksosite potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Eucalyptus türüne ait yapılan bu sitotoksosite çalışmalarında bizim çalışmamızdan farklı olarak *Eucalyptus globulus* dışındaki *Eucalyptus* cinslerinin, bizim çalışmamızdaki HUVEC sağlıklı hücre dizisi üzerine olan etkisi değil özellikle farklı türde kanserli hücre hatları üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda *E.globulus*'un tüm konsantrasyonlarda HUVEC hücre dizisi üzerine uygulanması sonucu canlılık oranının 24. saat sonunda % 80'in üzerinde olduğu görülmüştür. Maruziyet süresi uzadığında ise 48. saat sonunda 50 µl/mL üzerindeki konsantrasyonlarda canlılık oranının % 50'nin altına indiği gözlenmiştir (Çizelge 4.25).

Cabral ve arkadaşları [173], *Juniperus communis subsp. alpina (suter) çelak* iğnelerinin esansiyel yağın kimyasal bileşimi, antifungal aktivitesi ve sitotoksitesini araştırmışlardır. Sitotoksosite HaCaT keratinositleri üzerinde MTT yöntemi ile test edilmiştir. İğnelere elde edilen esansiyel yağ, insan keratinosit HaCaT hücre viabilitesini kontrole oranla $65,65 \pm 1,195$ (1,25 µl/mL konsantrasyonda), $21,47 \pm 4,078$ (0,64 µl/mL konsantrasyonda) ve $1,59 \pm 1,206$ (0,32 µl/mL konsantrasyonda) oranında azaltmıştır. Araştırmacılar, *J.communis subsp. alpina* iğnesi yağının 0,32–0,64 µl/mL konsantrasyonunda HaCaT keratinositleri üzerine ciddi sitotoksosite göstermediğini ve bu sonuçların keratinositler üzerine çok az olumsuz etki gösteren ancak yeterli antifungal etkisi olan bir dozun bulunabileceğini işaret ettiğini rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde *J.communis*'in giderek artan konsantrasyonlarına yanıt olarak çalıştığımız sağlıklı hücre dizisinin canlılık oranının düştüğü gözlenmiştir. Yukarıdaki çalışmada araştırmacılar HaCaT keratinositleri üzerinde araştırmalarını yürütmüşken bizim çalışmamızda HUVEC hücre dizisi üzerinde sitotoksosite çalışılmıştır.

Ferrazzano ve arkadaşları [293], İtalyan yara bakımı bitkilerinin temel oral patojenik bakteriler üzerine olan antimikrobiyal ve biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Aynı zamanda bu bitkilerden kuvvetli antibakteriyel etki gösterenlerinin, XTT hücre canlılığı yöntemi ile keratinosit benzeri hücreler (HaCaT) ve insan gingival fibroblastları üzerine potansiyel sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma bitkilerimizden *J.communis*, bizim çalışmamızdan farklı olarak her iki hücre dizisi üzerine belirgin derecede toksik bulunmuştur ($p < 0,001$, hücre canlılığı % 20 ve altında olarak rapor edilmiştir). Kontrol için kullanılan triclosan'ın hücre canlılığında % 90'dan daha azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Araştırmacılar sitotoksitesiteyi yine bizim çalışmamızdan farklı olarak MTT kolorimetrik metodu yerine XTT hücre canlılığı yöntemi ile değerlendirmişlerdir.

Kuo ve arkadaşları [294], *Juniperus chinensis* ekstresinin antianjiogenik ve anti hepatoselüler karsinom aktivitesini araştırmışlardır. *J.chinensis*'in aktif içeriği olan CBT-143-S-F6F7'nin farklı HCC hücre tiplerinin çoğalmasında üzerine olan etkilerini MTT yöntemi ve IC50 hesaplayarak değerlendirmişlerdir. Hep 3B (IC50: 15.71 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dışındaki hücre tipleri üzerine ciddi düzeyde inhibe edici etkisi olduğunu rapor etmişler (tüm hücre tipleri için IC50 $< 0,1 \mu\text{g}/\text{mL}$) ve CBT-143-S-F6F7'nin potansiyel bir yeni HCC ilacı olarak yeni araştırmalarla değerlendirilmeyi hakettiğini vurgulamışlardır.

Moujir ve arkadaşları [295], *Juniperus brevifolia* yapraklarının sekonder metabolitlerinin sitotoksik aktivitelerini kolorimetrik MTT yöntemi ile in vitro olarak HeLa (insan serviks kanseri), A-549 (insan akciğer kanseri), MCF-7 (insan meme adenokarsinomu) ve Vero (Afrika yeşil maymunu) hücreleri üzerinde test etmişlerdir. Sekonder bileşiklerden 18-hidroksidehidroabietane (dehidroabietinol) ile 48 saatlik maruziyet sonrası tüm insan tümör hücre hatlarına, ancak özellikle HeLa üzerine (IC50 15,7 μM) selektif sitotoksik etki saptanmıştır. Dehidroabietinol'ün tümöral olmayan memeli Vero hücreleri üzerine ise daha yüksek IC50 değeri (28 μM) gösterdiği rapor edilmiştir.

Son iki çalışmada araştırmacılar bizim çalışmamızdan farklı olarak *Juniperus* cinslerinin özellikle farklı kanserli hücre tipleri üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Yalnızca Moujir ve arkadaşlarının üzerinde çalıştığı Vero hücreleri sağlıklı Afrika yeşil maymunu hücreleri olup bu çalışmada ise bizim çalışmamızdan farklı olarak *J.brevifolia*'nın esansiyel yağının değil sekonder bileşiklerinin sitotoksik etkileri araştırılmıştır.

Visanji ve arkadaşları [296], ortaçağ Avrupa'sında kullanılan tıbbi bileşiklerden elde edilen bileşiklerin anti karsinojen aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar *Rosmarinus officinalis*'in aktif bileşiklerinden carnosol ve carnosik asit'in kolorektal Caco-2 hücrelerinin katlanma zamanını önemli ölçüde uzattığını ve özellikle G2/M hücre siklusu arrestini indükleyerek bunların çoğalmasını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Cattaneo ve arkadaşları [297], *Rosmarinus officinalis* hidroalkolik ekstrelerinin insan melanoma A375 hücre dizisi canlılığı üzerine olan etkinliğini MTT ve Trypan mavisi metodları ile araştırmışlardır. Sonuçlar *R.officinalis* ekstresinin hücre çoğalmasını zaman ve doza bağımlı olarak azalttığını göstermiştir. Ekstrenin 1:120, 1:240 ve 1:480 dilüsyonları hücre metabolik aktiviteyi büyük ölçüde azaltmıştır. Etki ilk 24 saatte dahi belirgin iken, 48. ve 72. saatte daha da artmıştır ancak 1,960 dilüsyon ise süreden bağımsız olarak etkisiz olarak saptanmıştır. IC50 değeri 72 saatlik inkübasyon sonrası 1:480 olarak tahmin edilmiştir. Hücre çoğalması üzerine olan etkisi göz önünde tutulduğunda 72 saatlik inkübasyon sonrası 1:120 ve 1:240 dilüsyonlar hücre çoğalmasını büyük ölçüde azaltmış ancak 1:960 dilüsyon etkisiz bulunmuştur. Antiproliferatif aktiviteden en çok hangi bileşenlerin sorumlu olduğu araştırıldığında, apigenin, luteolin ve carnosol'ün en etkili bileşenler olduğu sonucuna varılmıştır.

Bizim çalışmamızda ise her iki araştırmadan farklı olarak *R.officinalis*'in kanserli hücre hatları üzerine değil sağlıklı HUVEC hücre dizisi üzerine olan sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda 24. saat sonunda *R.officinalis* esansiyel yağının çok yüksek (500 µl/mL'ye kadar) dozlarda uygulanmasına rağmen canlılık oranının % 100'ün üzerinde olduğu, maruziyet süresi 48 saate uzatıldığında ise artan dozlarla canlılık oranının giderek düştüğü rapor edilmiştir (Çizelge 4.45).

Ayesh ve arkadaşları [298], *Thymus vulgaris L.* ve *Origanum syriacum L.* bitkilerinin etanol ekstrelerinin hücresel viabilite üzerine olan etkileri ve sitotoksitelerini, THP-1 lösemi hücre dizisi ve taze izole edilmiş periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC'ler) üzerinde MTT ve LDH yöntemleri ile araştırmışlardır. Her iki bitkinin ekstreleri de konsantrasyon bağımlı şekilde canlı THP-1 ve PBMC sayısını ciddi oranda azaltmıştır. *T.vulgaris*'in THP-1 ve PBMC'ler üzerine IC50 değerleri sırayla 0,157 ve 0,334 mg/mL olarak bulunmuştur. Selektivite indeksi ise 2,1 olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan *O.syriacum* ekstresi normal hücreler üzerine lösemik hücrelerden daha fazla etkili olarak

bulunmuştur (selektivite indeksi 0,2). Bu bulgular *T.vulgaris*'in kanser terapötik ajanları içerebileceğini ve saflaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda bile lösemik hücelere normal kan hücrelerinden daha selektif olduğunu göstermiştir.

T.vulgaris bizim çalışmamızda tüm konsantrasyonlarda HUVEC hücre dizisinin canlılığını belirgin oranda azaltmıştır (Çizelge 4.53). Ayesh ve arkadaşlarının çalışması ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda kanserli hücre dizisi üzerine olan etkisi araştırılmadığı için selektivite indeksinin hesaplanması mümkün olmamıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmada araştırmacılar sağlıklı hücre dizisi olarak PBMC'leri kullanmışken bizim çalışmamızda HUVEC hücre dizisi üzerine olan sitotoksite araştırılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; genellikle mide ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarına iyi geldiği bilinen ve literatürde *H. pylori* üzerinde yapılmış yeterli çalışması bulunmayan 13 farklı bitkisel yağ seçilmiş ve *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri ile HUVEC hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. *H.pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkisini araştırdığımız 13 bitkisel yağdan *Eucalyptus globulus* (MİK: 2,81 %v/v, MBK: 5,62 %v/v), *Juniperus communis* (MİK: 0,35 %v/v, MBK: 0,70 %v/v), *Rosmarinus officinalis* (MİK: 2,81 %v/v, MBK: 5,62 %v/v) ve *Thymus vulgaris* (MİK: 0,70 %v/v, MBK: 1,40 %v/v) 'in etkili olduğu gözlemlenmiştir. Diğer bitkisel yağların ise *H.pylori* üzerine antimikrobiyal etkisi saptanmamıştır (Çizelge 4.1).

Çalışmamızda *H. pylori*'ye karşı etkili bulduğumuz yağların HUVEC hücre dizisi üzerinde sitotoksik etkileri de araştırılmıştır. MTT yöntemi ile 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarda *Rosmarinus officinalis*, 500 µl/ml konsantrasyonda *Eucalyptus globulus* ile muamele edilen HUVEC üzerinde 24. saatteki canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır (Çizelge 4.25, Çizelge 4.45). *Juniperus communis*'in artan konsantrasyonlara yanıt olarak canlılık oranının anlamlı olarak düştüğü gözlenirken (Çizelge 4.29), *Thymus vulgaris*'in tüm konsantrasyonlarında canlılık oranının düşük olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.53). MTT yöntemi ile ölçülen 48. saatteki canlılık oranları karşılaştırıldığında da 1, 5, 50, 100, 250 µl/ml konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus* (Çizelge 4.25), 500 µl/ml konsantrasyonunda *Thymus vulgaris* ile muamele edilen HUVEC üzerinde canlılık oranları en yüksek değerlerde saptanmıştır. *Thymus vulgaris*'in diğer tüm konsantrasyonlarında canlılık oranları % 20 civarında ve diğer yağlara göre daha düşük olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.53). *Rosmarinus officinalis*'in artan konsantrasyonlarına yanıt olarak canlılık oranının belirgin olarak düştüğü (Çizelge 4.45), *Juniperus communis*'in ise 50 µl/mL üzerindeki konsantrasyonlarında canlılık oranının belirgin şekilde % 20'nin altına indiği gözlenmiştir (Çizelge 4.29).

Yağların LDH yöntemi ile ölçülen 24. saatteki sitotoksosite oranları karşılaştırıldığında *Thymus vulgaris* HUVEC üzerinde en yüksek sitotoksositeye sahip bitkisel yağ olarak saptanmıştır. *Juniperus communis* (Çizelge 4.29) ve *Rosmarinus officinalis*'in sitotoksitesitesi artan konsantrasyonla beraber artış göstermiş ancak *Eucalyptus globulus* 'un sitotoksitesitesi tüm konsantrasyonlarda en düşük seviyede gözlenmiş ve %10-15 seviyesini

aşmamıştır. 48.saatteki sitotoksosite oranları karşılaştırıldığında tüm yağların artan konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinin belirgin oranda arttığı gösterilmiştir. 1 ve 100 µl/ml konsantrasyonlarında *Eucalyptus globulus* (Çizelge 4.25), 5, 500 µl/ml konsantrasyonlarında *Thymus vulgaris* (Çizelge 4.53), 50, 250 µl/ml konsantrasyonlarında ise *Rosmarinus officinalis* (Çizelge 4.45) HUVEC üzerinde 48. saatte en yüksek toksisiteye sahip bitkisel yağlar olarak saptanmıştır.

Literatürde bizim çalışmamızdan farklı olarak *Eucalyptus globulus* dışındaki Eucalpytus cinsleri ile farklı *Juniperus* cinslerinin özellikle çeşitli kanserli hücre soyları üzerine olan etkileri araştırılmıştır. *J. communis*'in sağlıklı hücre dizisi üzerine sitotoksitesini araştıran çalışma bulunmamıştır. Yalnızca Moujir ve arkadaşlarının [287] üzerinde çalıştığı Vero hücreleri sağlıklı Afrika yeşil maymunu hücreleri olup bu çalışmada ise *J.brefolia*'nın esansiyel yağının değil sekonder bileşiklerinin sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Literatürde *R.officinalis*'in HUVEC hücre dizisi üzerine olan sitotoksik etkisini araştıran çalışma bulunmamıştır. Ayesh ve arkadaşları *T.vulgaris*'in sağlıklı PBMC'ler ve THP-1 lösemi hücre dizisi üzerine olan sitotoksitesini ve yağın selektivite indeksini araştırmışlarken bizim çalışmamızda kanserli hücre dizisi üzerine olan etkisi araştırılmadığı için selektivite indeksinin hesaplanması mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızın bulgularının literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz. Halk tıbbında uzun yıllardır gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılan 13 farklı esansiyel yağın 9'unun *H.pylori* üzerine anti-mikrobiyal etkisinin olmadığını gösterilmesi, eradikasyon oranlarının yükseltilmesi amacıyla bitkisel kaynaklı yeni antibakteriyel ajanlar arayışındaki araştırmacılar için değerli bir kaynak olacaktır. Bununla beraber *Eucalyptus globulus*, *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris*'in *H. pylori*'ye karşı önemli ölçüde anti bakteriyel etkinliğinin gösterilmiş olması da ileri araştırmalar için çok değerli bulgular teşkil etmiştir.

Çalışmamızın önemli kısıtlılıklarından bir tanesi ise, *H. pylori* üzerine etkinliği olduğu gösterilen bu dört uçucu yağın kimyasal bileşenlerinin ayrı ayrı *H. pylori* üzerinde denenmemiş olmasıdır. Bu kimyasal bileşenlerden hangisinin ya da hangilerinin birlikte anti *H. pylori* etkinliğinden sorumlu olduğunun gösterilmesi büyük önem arz etmektedir. Örneğin çalışmamızda en yüksek sitotoksosite değerlerine sahip olan *Thymus vulgaris*'in

uçucu yağının bileşenlerinden bir tanesi yüksek anti *H. pylori* aktivitesi yanında sağlıklı hücreler üzerine çok düşük sitotoksosite değerleri gösteriyor olabilir.

Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı ise uçucu yağların etkinliklerinin farklı *H. pylori* suşları üzerinde test edilmemiş olmasıdır. Örneğin, *H. pylori* virulans faktörlerinden CagA ve VagA pozitifliği bakterinin virülansını belirgin ölçüde arttırabilmektedir ve farklı *H. pylori* suşları üzerinde bitkisel esansiyel yağların etkinlik ve sitotoksiteleri değişkenlik gösteriyor olabilir. Bu nedenle, çalışmamızda sunduğumuz bilgiler ışığında, anti *H. pylori* aktivitesi gösterdiğini tespit ettiğimiz uçucu yağların aktif kimyasal bileşiklerinin, farklı virülansa sahip *H. pylori* suşları üzerinde etkinliklerini ve toksisitelerini belirlemeyi amaçlayan daha ileri *in vitro* ve *in vivo* araştırmaların *H. pylori* eradikasyon oranlarını arttıracak adjuvan bitkisel ilaçların geliştirilmesine önemli katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Falush, D., Wirth, T., Pritchard, J.K., Stephens, M., Kidd, M., Blaser, M.J., Graham, D.Y., Vacher, S., Perez-Perez, G.I., Yamaoka, Y., Megraud, F., Otto, K., Reichard, U., Katzowitsch, E., Wang, X., Achtman, M. and Suerbaum, S. (2003). Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science*, 299(5612), 1582-1585.
2. Goodwin, S.C., Armstrong, J.A., Chilvers, T., Peters, M., Collins, M.D., Sly, L., McConnell, W. and Harper, W.E.S. (1989). 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 Bacteriology*, 39(4), 397-405.
3. Marshall, B.J. and Warren, J.R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*, 1(8390), 1311-1315.
4. Hopkins, R.J. and Morris, J.G. (1994). *Helicobacter pylori*: The missing link in perspective. *The American Journal of Medicine*, 97(3), 265-277.
5. Suerbaum, S. and Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *The New England Journal of Medicine*, 347(15), 1175-1186. Shames, B., Krajden, S., Fuksa, M., Babida, C., Penner, J.L. (1989). Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and dental plaque. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(12):2849-2850.
6. Shames, B., Krajden, S., Fuksa, M., Babida, C., Penner, J.L. (1989). Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and dental plaque. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(12):2849-2850.
7. Majmudar, P., Shah, S.M., Dhunjibhoy, K.R. and Desai, H.G. (1990). Isolation of *Helicobacter pylori* from dental plaques in healthy volunteers. *Indian Journal of Gastroenterology*, 9(4), 271-272.
8. Dowsett, S.A., Archila, L., Segreto, V.A., Gonzales, C.R., Silva, A., Vastola, K.A., Bartizek, R.D. and Kowolik, M.J. (1999). *Helicobacter pylori*: Infection in indigenous families of Central America: Serostatus and oral and fingernail carriage. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2456-2460.
9. Oshowo, A., Gillam, D., Botha, A., Tunio, M., Holton, J., Boulos, P. and Hobsley, M. (1998). *Helicobacter pylori*: The mouth, stomach, and gut axis. *Ann Periodontol*, 3(1), 276-280.
10. Socransky, S.S. and Haffajee, A.D. (2002). Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*, 28(1), 12-55.
11. Çelik, E. ve Yuvalı Çelik, G. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
12. Kıvanç, M. ve Akgül, A. (1986). Antibacterial activities of essential oils from turkish spices and citrus. *Flavour and Fragrance Journal*, 1(4), 175-179.

13. Maixner, F., Krause-Kyora, B., Turaev, D., Herbig, A., Hoopmann, M.R., Hallows, J. L., Kusebauch, U., Vigl, E.E., Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Sullivan, N., Cipollini, G., Coia, V., Samadelli, M., Engstrand, L., Linz, B., Moritz, R.L., Grimm, R., Krause, J., Nebel, A., Moodley, Y., Rattei, T. and Zink, A., (2016). The 5300-year-old *Helicobacter pylori* genome of the iceman. *Ancient Microbiome*, 35(6269),162-165.
14. Allison, M.J., Bergman, T. and Gerszten, E. (1999). Further studies on fecal parasites in antiquity. *American Journal of Clinical Pathology*, 112(5), 605-609.
15. Achtman, M., Azuma, T., Berg, D.E., Ito, Y., Morelli, G., Pan, Z.J., Suerbaum, S., Thompson, S.A., Vander, E.A. and Van Doorn, L.J. (1999). Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Molecular Microbiology*, 32(3), 459-470.
16. Van Doorn, L.J., Figueiredo, C., Megraud, F., Pena, S., Midolo, P., Queiroz, D.M., Carneiro, F., Vanderborcht, B., Pegado, M.D. and Sanna, R. (1999). Geographic distribution of *vacA* allelic types of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 116(4), 823-830.
17. Kersulyte, D., Mukhopadhyay, A.K., Velapatino, B., Su, W., Pan, Z., Garcia, C., Hernández, V., Valdez, Y., Mistry, R.S. and Gilman, R.H. (2000). Differences in genotypes of *Helicobacter pylori* from different human populations. *Journal of Bacteriology*, 182(11), 3210-3218.
18. Ghose, C., Pérez-Pérez, G.I., Domínguez-Bello, M.G., Pride, D.T., Bravi, C.M. and Blaser, M.J. (2002). East Asian genotypes of *Helicobacter pylori* strains in Amerindians provide evidence for its ancient human carriage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(23), 15107-15111.
19. Osato, M.S., Kim, J.G., Ramírez, F.C. and Mahachai, V. (2002). *Helicobacter pylori* in North and South America before Columbus. *FEBS Letters*, 517(1-3), 180-184.
20. Linz, B., Balloux, F., Moodley, Y., Manica, A., Liu, H., Roumagnac, P., Falush, D., Stamer, C., Prugnolle, F. and Merwe, S.W. (2007). An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature*, 445(7130), 915-918.
21. Nagorni, A. (1999). *Helicobacter pylori* At the end of the second millenium. *The Scientific Journal Facta Universitatis*, 7(1), 15-25.
22. Kidd, M., and Modlin, I.M. (1998). A century of *Helicobacter pylori*. *Gastric Surgical Pathobiology Research*, 59(1), 1-15.
23. Luck, J.M., and Seth, T.N. (1925). The physiology of gastric urease. *Biochemical Journal*, 19(3):357-365.
24. Fitzgerald, O., and Murphy, P. (1950). Studies on the physiological chemistry and clinical significance of urease and urea with special reference to the stomach. *Irish Journal of Medical Science*, 25(97),159.

25. Gökçekuyu, B.M. (2011). *Helicobacter pylori* eradikasyonunda birinci basamak tedavide kullanılan antibiyotiklerin direnç durumları. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.
26. Delluva, A.M., Markley, K., and Davies, R.E. (1968). The absence of gastric urease in germ-free animals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 151(3):646-50.
27. Steer, H.W., and Colin-Jones, D.G. (1975). Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut*, 16(8):590-597.
28. Warren, J.R., and Marshall, B. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1(8336):1273-5.
29. Çalışkan Alingil, R. (2013). *Genotipleri farklı Helicobacter pylori kökenlerinin nötrofil ve monosit hücre kültürlerinde oluşturduğu sitokin yanıtları*. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
30. Dunn, B.E., Cohen, H. and Blaser, M.J. (1997). *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4):720-41.
31. Kuipers, E.J., Thijs, J.C. and Festen, H.P.M. (1995). The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic-ulcer disease. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 9(2): 59-69.
32. Sipponen, P., Varis, K., Fraki, O., Korri, U.M. , Seppala, K. and Siurala, M. (1990). Cumulative 10-year risk of symptomatic duodenal and gastric-ulcer in patients with or without chronic gastritis. A clinical follow-up study of 454 outpatients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 25(10), 966-973.
33. Wroblewski, L.E., Peek, R.M. and Wilson, K.T. (2010). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(4), 713-739.
34. Blaser, M.J., and Atherton, J.C. (2004). *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *Journal of Clinical Investigations*. 113(3):321-33.
35. Zak-Prelic, M.R-LR. and Sysa-Jedrzejowsk, A. (2003). The role of *Helicobacter pylori* infection in the etiology of chronic urticaria. *Dermatologia Kliniczna*, 5(1): 51-54.
36. Marshall, B. (2002). *Helicobacter pylori*: 20 years on. *Clinical Medicine*, 2(2), 147-152.
37. Graham, D.Y., Malaty, H.M., Evans, D.G, Evans, D.J., Klein, P.D. and Adam, E. (1991). Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United-States: Effect of age, race, and socioeconomic-status. *Gastroenterology*, 100(6), 1495-1501.
38. Lehours, P. and Yilmaz, O. (2007). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 12(1), 1-3.

39. Cherian, S., Forbes, D., Sanfilippo, F., Cook, A. and Burgner, D. (2008). The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in African refugee children resettled in Australia. *Medical Journal of Australia*, 189(8), 438–441.
40. Naito, Y., Shimizu, T., Haruna, H., Fujii, T., Kudo, T. and Shoji, H. (2008). Changes in the presence of urine *Helicobacter pylori* antibody in Japanese children in three different age groups. *Pediatrics International*, 50(3), 291–294.
41. Moujaber, T., MacIntyre, C.R., Backhouse, J., Gidding, H., Quinn, H. and Gilbert, G.L. (2008). The seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Australia. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(5), 500–504.
42. Sasidharan, S. and Uyub, A.M. (2009). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection among asymptomatic healthy blood donors in Northern Peninsular Malaysia. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(4), 395–398.
43. Tam, Y.H., Yeung, C.K., Lee, K.H., Sihoe, J.D., Chan, K.W., Cheung, S.T. and Mou, J.W. (2008). A population-based study of *Helicobacter pylori* infection in Chinese children resident in Hong Kong: prevalence and potential risk factors. *Helicobacter*, 13(3), 219–224.
44. Sykora, J., Siala, K., Varvarovska, J., Pazdiora, P., Pomahacova, R. and Huml, M. (2009). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic children: A prospective population-based study from the Czech Republic. Application of a monoclonal-based antigen-in stool enzyme immunoassay. *Helicobacter*, 14(4), 286–297.
45. Breckan, R.K., Paulssen, E.J., Asfeldt, A.M., Mortensen, L., Straume, B. and Florholmen, J. (2009). The impact of body mass index and *Helicobacter pylori* infection on gastroesophageal reflux symptoms: A population-based study in Northern Norway. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 44(9), 1060–1066.
46. Santos, I.S., Boccio, J., Davidsson, L., Hernandez-Triana, M., Huanca-Sardinas, E. and Janjetic, M. (2009). *Helicobacter pylori* is not associated with anaemia in Latin America: Results from Argentina, Brazil, Bolivia, Cuba, Mexico and Venezuela. *Public Health Nutrition*, 12(10), 1862–1870.
47. Hirai, I., Sasaki, T., Fujimoto, S., Moriyama, T., Azuma, T. and Yamamoto, Y. (2009). A method for assessment of *Helicobacter pylori* genotype using stool specimens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 56(1), 63–66.
48. Zhang, D.H., Zhou, L.Y., Lin, S.R., Ding, S.G., Huang, Y.H. and Gu, F. (2009). Recent changes in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection among children and adults in high- or low-incidence regions of gastric cancer in China. *Chinese Medical Journal*, 122(15), 1759–1763.
49. Özden, A., Dumlu, H., Dönderci, Ö., Çetinkaya, H. ve Soylu, K. (1992). *Helicobacter pylori* infeksiyonunun ülkemizde seroepidemiolojisi. *Gastroenteroloji*, 3(1), 664–668.

50. Abasıyanık, M.F., Tunç, M. ve Salih, B.A. (2004). Enzyme immunoassay and immunoblotting analysis of *Helicobacter pylori* infection in Turkish asymptomatic subjects. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 50(3), 173-177.
51. Shimada, T., Ogura, K., Ota, S.I., Terano, A., Takahashi, M., Hamada, E., Omata, M., Sumino, S. and Sassa, R. (1994). Identification of *Helicobacter pylori* in gastric specimens, gastric-juice, saliva, and feces of Japanese patients. *Lancet*, 343(8913), 1636-1637.
52. Krasteva, A., Panov, V.I., Krasteva, A.D. and Kisselova, A. (2011). Oral cavity and systemic diseases *Helicobacter pylori* and dentistry. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(3), 2447-2451.
53. Vale, F.F. and Vitor, J.M. (2010). Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: Does food play a role in rural and urban areas? *International Journal of Food Microbiology*, 138(1-2), 1- 12.
54. Megraud, F. (1995). Transmission of *Helicobacter pylori*: Faecal-oral versus oral-oral route. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 9(2), 85-91.
55. Lee, A., Fox, G.J., Otto, G., Hegedus, D.E. and Krakowka, S. (1991). Transmission of *Helicobacter spp*: A challenge to the dogma of faeco-oral spreading. *Epidemiology & Infection*, 107(1), 99-109.
56. Chow, T.K., Lambert, J.R., Wahlqvist, M.L. and Hsu-Hage, B.H. (1995). *Helicobacter pylori* in Melbourne Chinese immigrants: Evidence for oral-oral transmission via chopsticks. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 10(5), 562-569.
57. Thomas, J.E., Gibson, G.R., Darboe, M.K., Dale, A. and Weaver, L.T. (1992). Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet*, 340(8829), 1194-1195.
58. Kelly, S.M., Pitcher, M.C.L., Farmery, S.M. and Gibson, G.R., (1994). Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology*, 107(6), 1671-1674.
59. Parsonnet, J., Shmueli, H. and Haggerty, B.S. (1999). Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *Journal of the American Medical Association*, 282(23), 2240-2245.
60. Mapstone, N.P., Lynch, D.A.F., Lewis, F.A., Axon, A.T.R., Tompkins, D.S. and Dixon, M.F. (1993). Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. *Journal of Clinical Pathology*, 46(6), 540-543.
61. Li, C., Ha, T., Ferguson, D.A., Chi, D.S., Zhao, R. and Patel, N.R. (1996). A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva and feces. Evidence of high prevalence of *H. pylori* in saliva supports oral transmission. *Digestive Diseases and Science*, 41(11), 2142-2149.
62. Namavar, F., Roosendaal, R., Kuipers, E.J., de Groot, P., van der Bijl, M.W. and Pena, A.S. (2001). Presence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity, oesophagus,

- stomach and faeces of patients with gastritis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*, 14(3), 234.
63. Klein, P.D., Graham, D.Y., Gaillour, A., Opekun, A.R. and Brian Smith, E. (1991). Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet*, 337(8756), 1503-1506.
 64. Hulten, K., Han, S.W., Enroth, H., Klein, P.D., Opekun, A.R. and Gilman, R.H. (1996). *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. *Gastroenterology*, 110(4), 1031-1035.
 65. Hopkins, R.J., Vial, P.A., Ferrecio, C., Ovalle, J., Prado, P. and Sotomayor, V. (1993). Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: Vegetables may serve as one route of transmission. *The Journal of Infectious Diseases*, 168(1), 222-226.
 66. Grubel, P., Huang, L., Masubuchi, N., Stutzenberger, F.J. and Cave D.R. (1998). Detection of *Helicobacter pylori* DNA in houseflies (*Musca domestica*) on three continents. *Lancet*, 352(9130), 788-789.
 67. De Schryver, A., Van Winckel, M., Cornelis, K., Moens, G., Devlies, G. and De Backer, G. (2006). *Helicobacter pylori* infection: Further evidence for the role of feco-oral transmission. *Helicobacter*, 11(6), 523-8.
 68. Sharma, V. and Aggarwal, A. (2015). *Helicobacter pylori*: Does it add to risk of coronary artery disease. *World Journal of Cardiology*, 7(1), 19-25.
 69. Oleastro, M. and Ménard, A. (2013). The role of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins in adherence and pathogenesis. *Biology*, 2(3), 1110-1134.
 70. Dunn, B.E., Campbell, G.P., Perezperez, G.I. and Blaser, M.J. (1990). Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(16), 9464-9469.
 71. Smoot, D.T., Resau, J.H., Naab, T., Desbordes, B.C., Gilliam, T., Bullhenry, K., Curry, S.B., Nidiry, J., Sewchand, J. and Mills-Robertson, K. (1993). Adherence of *Helicobacter pylori* to cultured human gastric epithelial cells. *Infection and Immunity*, 61(1), 350-355.
 72. Smoot, D.T. (1997). How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Direct mechanisms. *Gastroenterology*, 113(6), 31-34.
 73. Goodwin, C.S. and Worsley, B.W. (1993). Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 22(1), 5-19.
 74. Polat, M. ve Köksoy, S. (2015). Gastrointestinal sistemde Tip 1 kanserojen bir bakteri: *Helicobacter pylori*. *MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 84-96.
 75. Uyanık M.H. ve Aktaş, O. (2007). *Helicobacter pylori*'nin mikrobiyolojik tanısı. *The Eurasian Journal of Medicine*, 39(1), 205-209.
 76. Yılmaz, Y.A. (2004). *Helicobacter pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35(1), 182-186.

77. Van Doorn, L.J, Figueriredo, C., Rossau, R., Jannes, G., Van Asbroeck, M., Sousa, J.C., Carneiro, F. and Quinty, W.G.V. (1998). Typing of *Helicobacter pylori* vacA gene and detection of cagA Gene by PCR and reverse hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(5), 1271–1276.
78. Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (2008). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi.*
79. Wirth, H.P., Yang, M., Peek, R.M., Tham, K.T. and Blaser, M.J. (1997). *Helicobacter pylori* Lewis expression is related to the host Lewis phenotype. *Gastroenterology*, 113(4), 1091-1098.
80. Isami, T., Takashi, J. and Katsushi, W. (2000). Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 277(1), 159-163.
81. Spohn, G., Delany, I., Rappuoli, R. and Scarlato, V. (2002). Characterization of the HspR-Mediated stress response in *Helicobacter pylori*. *Journal of Bacteriology*, 184(11), 2925–2930.
82. Kostrzynska, M., Betts, J.D., Austin, J.W. and Trust T.J. (1991). Identification, characterization and spatial localization of two flagellin species in *Helicobacter pylori* flagella. *Journal of Bacteriology*, 173(3), 937-946.
83. Eaton, K.A., Suerbaum, S., Josenhans, C. and Krakowka, S. (1996). Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes. *Infection and Immunology*, 64(7), 2445-2448.
84. Cheng-Yen, K., Bor-Shyang, S. and Jiunn-Jong, W. (2016). *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal*, 39(1), 14-23.
85. Milan, K.P., Melanie, I.T. and Evelyn, A.K.J. (2012). *Helicobacter* species methods and protocols. In Houghton J.M. (Ed), *Innate Immune Responses to Helicobacter pylori* Infection. USA. *Springer Protocols*, 205-207.
86. Peek, R.M. Jr., Fiske, C. and Wilson, K.T. (2010). Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiological Reviews*, 90(3) 831–858.
87. Saleh, M. and Trinchieri, G. (2011). Innate immune mechanisms of colitis and colitis-associated colorectal cancer. *Nature Reviews Immunology*, 11(1), 9–20.
88. Mandell, L., Moran, A.P., Cocchiarella, A., Houghton, J., Taylor, N., Fox, J.G., Wang, T.C. and Kurt-Jones, E.A. (2004). Intact gram-negative *Helicobacter pylori*, *Helicobacter felis*, and *Helicobacter hepaticus* bacteria activate innate immunity via toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4. *Infection and Immunity*, 72(11), 6446–6454.
89. Watanabe, T., Asano, N., Fichtner-Feigl, S., Gorelick, P.L., Tsuji, Y., Matsumoto, Y., Chiba, T., Fuss, I.J., Kitani, A. and Strober, W. (2010). NOD1 contributes to mouse

- host defense against *Helicobacter pylori* via induction of type I IFN and activation of the ISGF3 signaling pathway. *Journal of Clinical Investigation*, 120(5), 1645–1662.
90. Polk, D.B. and Peek, R.M. Jr. (2010). *Helicobacter pylori*: Gastric cancer and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 10(8),403–414.
 91. Torok, A.M., Bouton, A.H. and Goldberg, J.B. (2005). *Helicobacter pylori* induces interleukin-8 secretion by Toll-like receptor 2- and Toll-like receptor 5-dependent and -independent pathways. *Infection and Immunity*, 73(3), 1523–1531.
 92. Takenaka, R., Yokota, K., Aya da, K., Mizuno, M., Zhao, Y., Fujinami, Y., Lin, S.N., Toyokawa, T., Okada, H., Shiratori, Y. and Oguma, K. (2004). *Helicobacter pylori* heat-shock protein 60 induces inflammatory responses through the Toll-like receptor-triggered pathway in cultured human gastric epithelial cells. *Microbiology*,150(12), 3913–3922.
 93. Kurt-Jones, E.A., Sandor, F., Ortiz, Y., Bowen, G.N., Counter, S.L., Wang, T.C. and Finberg, R.W. (2004). Use of murine embryonic fibroblasts to define Toll-like receptor activation and specificity. *Journal of Endotoxin Research*, 10(6), 419–424.
 94. Kusters, J.G., van Vliet, A.H. and Kuipers, E.J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449-490.
 95. Hatakeyama, M. (2006). The role of *Helicobacter pylori* CagA in gastric carcinogenesis. *International Journal of Hematology*, 84(4), 301-308.
 96. Göral, V. (2006). Akut ve kronik gastritler. *Güncel Gastroenteroloji*, 10(4), 292-304.
 97. Tünger, Ö. (2008). *Helicobacter pylori* infeksiyonları. *İnfeksiyon Dergisi*, 22(2), 107-115.
 98. Gümürdüllü, Y. and Taşdoğan, B.E. (2009). Are the peptic duodenal and gastric ulcers same or not?. *Journal of Gastroenterohepatol-Special Topics*, 2(3), 14-19.
 99. Demiray, M. ve Manavoğlu, O. (2003). *Helicobacter pylori* ve gastrik karsinogenez. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 29(2), 29-33.
 100. Uzunismail, H. (2001). *Peptik ülser hastalığı: Etyopatogenez, semptomatoloji, tanı ve komplikasyonlar*. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu, İstanbul.
 101. Hopkins, R.J., Girardi, L.S. and Tuney, E.A. (1996). Relationship between *Helicobacter* eradication and reduced duodenal and gastric ulcer recurrence. *Gastroenterology*,110(4), 1244-52.
 102. Santander, C., Gravalos, R.G., Gomez, C.A., Cantreo, J. and Pajares, J.M. (1996). Antimicrobial therapy for *Helicobacter pylori* infection versus long term maintenance antisecretion treatment in prevention of recurrent hemorrhage from peptic ulcer: Prospective nonrandomised trial on 125 patients. *The American Journal of Gastroenterology*, 91(8), 1549-1552.

103. Soll, AH. (1998). Peptic ulcer and its complications. In M. Feldman, B. Scharschmidt, M.H. Sleesenger (Eds.), *Sleesenger Fordtran's Gastrointestinal and Hepatic Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. 6th ed. Philadelphia, pp. 620-78.
104. Friedman, L.S., Peterson, W.L. (1998). Peptic ulcer and related disorders. In A.S. Fauci, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, J.D. Wilson, J.B. Martin, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo (Eds.), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th Ed. New York, pp. 1596-1616.
105. Soll, A.H., Isenberg, J. (2000). Peptic ulcer disease: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations and diagnosis. In J.M. Drazen, G.N. Gill, R.C. Griggs, J.P. Kokko, G.L. Mandel, D.W. Powell, A.I. Schafer (Eds.), *Goldman Bennett Cecil Textbook of Medicine*. 21st Ed. Philadelphia, pp. 671-5.
106. Khulusi, S., Badve, S. and Patel, P. (1996). Pathogenesis of gastric metaplasia of the human duodenum: Role of *Helicobacter pylori*, gastric acid and ulceration. *Gastroenterology*, 110(2), 452-458.
107. Crabtree, J.E., Wyatt, J.I., Sobolo, G.M., and Miller, G. (1993). Systemic and mucosal humoral responses to *Helicobacter pylori* in gastric cancer. *Gut*, 34(10), 1339-1343.
108. Sipponen, T., Kosunen, T.V., Valle, J., Riihela, M.M., Seppala, K. (1991). *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 45(4): 319-323.
109. Talley, N.J., Zinsmeister, A.R., Weaver, A., Di Mongo, E.P. (1991). Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori* infection. *Journal of The National Cancer Institute* 83(23): 1734-1739.
110. IARC *Schistosomes*, liver flukes and *Helicobacter pylori* in IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *WHO publication*, 61(1), 1-241.
111. Correa, P. (1988). A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Research*, 48(13):3554-60.
112. Lee, S., Iida, M., Yao, T., Shindo, S., Nose, Y., Akazawa, K., Okabe, H., and Fujishima, M. (1990). Risk of gastric cancer in patients with nonsurgically treated peptic ulcer. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 25(12):1223-1226.
113. De Groot, H. (1994). Reactive Oxygen species in tissue injury. *Hepato-gastroenterology*, 41(4): 328-332.
114. Adelman, R., Saul, R.L., Ames, B.N. (1988). Oxidative damage to DNA: relation to species metabolic rate and life span. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 85(8): 2706- 2718.
115. Davies, G.R., Simmonds, N.J., Stevens, T.R., Sheaff, M.T., Banatvala, N., Laurenson I.F., Blake, D.R., and Rampton, D.S. (1994). *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut*, 35(2):179-185.

116. Baik, S.C., Youn, H.S., Chung, M.H., Lee, W.K., Cho, M.J., Ko, G.H., Park, C.K., Kasai, H., and Rhee, K.H. (1996). Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Research*, 56(6):1279-1282.
117. Mannick, E.E., Bravo, L.E. and Zarama, G. (1996). Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: Effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Research*, 56(14), 3238 – 3243.
118. El-Zimaity, H.M.T., Graham, D.Y., Genta, M.R. and Lechago, J. (2000). Sustained increase in gastric antral epithelial cell proliferation: Despite cure of *Helicobacter pylori* infection. *American Journal of Gastroenterology*, 95(4), 930-935.
119. Chow, K.W., Bank, S. and Ahn, S. (1995). *Helicobacter pylori* infection does not increase gastric antrum mucosal cell proliferation. *The American Journal of Gastroenterology*, 90(1), 64-66.
120. Lynch, D.A. and Axon, A.T. (1995). *Helicobacter pylori*, gastric cancer and gastric epithelial kinetics. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 7(1), 17-23.
121. Graham, D.Y. (1994). Benefits from elimination of *Helicobacter pylori* infection include major reduction in the incidence of peptic ulcer disease, gastric cancer, and primary gastric lymphoma. *Preventive Medicine*, 23(5), 712-716.
122. Rex, D.K., Cummings, O.W., Shaw, M., Cummings, M.D., Wong, R.K., Vasudeva, R.S., Dunne, D., Rahmani, E.Y., Helper, D.J. (2003). Screening for Barrett's esophagus in colonoscopy patients with and without heartburn. *Gastroenterology*, 125(6)1670-1677.
123. Dobrucalı, A. (2007). *Gastroözofajial reflü hastalığı ve teşhis ve tedavide karşılaşılan sorunlar*. Türkiye'de Sık Karşılaşılan Hastalıklar II Sempozyumu, İstanbul, 58;9-30.
124. Fass, R. and Wong, W.M. (2005). *Gastroesophageal reflux disease in clinical gastroenterology and hepatology*. (Eds), Weinstein, W., Hawkey, C.J., Bosch, J. Elsevier-Mosby, pp. 157-178.
125. Orlando, R.C., Dobrucalı, A. (2002). Gastroesophageal reflux disease. M. Feldman, R.C. Orlando (Eds.). *Atlas of esophageal disease*. Current Medicine, Philadelphia, pp. 91-116.
126. Özden, A. (2012). Fonksiyonel dispepsi. *Güncel Gastroenteroloji*, 16(4), 283-290.
127. Özden, A. (2013). Hp'nin 30. Yılı (1983-2013) *Helicobacter pylori* Eradikasyonunda Proton Pompa İnhibitörlerinin Yarattığı Mucize. *Güncel Gastroenteroloji*, 17(2), 119-131.
128. Cover, L.T. (2012). *Helicobacter* species methods and protocols in Houghton J.M. (Ed), Perspectives on Methodology for In Vitro Culture of *Helicobacter pylori*. USA: Springer Protocols, pp. 11-15.

129. St Maurice, M., Cremades, N., Croxen, M.A., Sisson, G., Sancho, J. and Hoffman, P.S. (2007). Flavodoxin: Quinone reductase (FqrB): A redox partner of pyruvate: Ferredoxin oxidoreductase that reversibly couples pyruvate oxidation to NADPH production in *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni*. *Journal of Bacteriology*, 189(13), 4764–4773.
130. Bury-Mone, S., Mendz, G.L., Ball, G.E., Thibonnier, M., Stingl, K., Ecobichon, C., Ave, P., Huerre, M., Labigne, A., Thiberge, J.M., and De Reuse, H. (2008). Roles of alpha and beta carbonic anhydrases of *Helicobacter pylori* in the urease-dependent response to acidity and in colonization of the murine gastric mucosa. *Infection and Immunity*, 76(2), 497–509.
131. Bury-Mone, S., Kaakoush, N.O., Asencio, C., Megraud, F., Thibonnier, M., De Reuse, H., and Mendz, G.L. (2006). Is *Helicobacter pylori* a true microaerophile? *Helicobacter*, 11(4), 296–303.
132. Xia, H.X., Keane, C.T. and O'Morain, C.A. (1994). Culture of *Helicobacter pylori* under aerobic conditions on solid media. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(5), 406–409.
133. Cederbrant, G., Kahlmeter, G. and Ljungh, A. (1992). Proposed mechanism for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 29(2), 115–120.
134. Cottet, S., Corthesy-Theulaz, I., Spertini, F. and Corthesy, B. (2002). Microaerophilic conditions permit to mimic in vitro events occurring during in vivo *Helicobacter pylori* infection and to identify Rho/Ras-associated proteins in cellular signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(37), 33978–33986.
135. Reynolds, D.J. and Penn, C.W. (1994). Characteristics of *Helicobacter pylori* growth in a defined medium and determination of its amino acid requirements. *Microbiology*, 140(10), 2649–2656.
136. Testerman, T.L., McGee, D.J. and Mobley, H.L. (2001). *Helicobacter pylori* growth and urease detection in the chemically defined medium Ham's F-12 nutrient mixture. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(11), 3842–3850.
137. Testerman, T.L., Conn, P.B., Mobley, H.L. and McGee, D.J. (2006). Nutritional requirements and antibiotic resistance patterns of *Helicobacter* species in chemically defined media. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(5), 1650–1658.
138. Doig, P., de Jonge, B.L., Alm, R.A., Brown, E.D., UriaNickelsen, M., Noonan, B., Mills, S.D., Tummino, P., Carmel, G., Guild, B.C., Moir, D.T., Vovis, G.F. and Trust, T.J. (1999). *Helicobacter pylori* physiology predicted from genomic comparison of two strains. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(3), 675–707.
139. Versalovic, J., Fox, J.G. (2003). *Helicobacter*. In P.R. Murray, E.J. Baron J.H. Tenover, M.A. Tenover, M.A. Tenover, R.H. Tenover, R.H. Tenover (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press, pp. 915-28.
140. McNulty, C.A., Lehours, P. and Mégraud, F. (2011). Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter*, 16(1), 10-18.

141. Erdem, B. (1999). *Campylobacter ve Helicobacter*. Ş. Ustaçelebi (Ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Kitabevi, pp. 531-40.
142. Nazlıgöl, Y., Ağbaba, E. (2010). Günümüzde *helicobacter pylori* enfeksiyonu teşhisinde kullanılan testlerin üstünlükleri ve zaafıları. *Bidder Tıp Bilimleri Dergisi*, 2(1), 37-40.
143. Bonamico, M., Strappini, P.M. and Bonci, E. (2004). Evaluation of stool antigen Test, PCR on Oral samples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter*, 9(1), 69-76.
144. Calvet, X., Quesada, M. and Sanfeliu, I. (2003). Evaluation of a rapid test (Immuno Card STAT! HpSA) for *Helicobacter pylori* detection in stools. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26(9), 531-4.
145. Kabir, S. (2004). Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction. *Helicobacter*, 9(2), 115-23.
146. Monteiro, L., Gras, N., Vidal, R., Cabrita, J. and Megraud, F. (2001). Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human feces by PCR: DNA stability and removal of inhibitors. *Journal of Microbiological Methods*, 45(2), 89-94.
147. Kabir, S. (2003). Clinic-based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzyme immunoassay of faeces, urine and saliva. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17(11), 1345-54.
148. Kasapoğlu, B. ve Türkay, C. (2008). *Helicobacter pylori*'de Tedavi ve Direnç. *Güncel Gastroenteroloji*, 12(3), 141-145.
149. Gisbert, J.P. and Pajares, J.M. (2004). C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 20(10), 1001-1017.
150. Yeşilada, E. (2012). Ottan Fitofarmasötiğe; Güncel Fitoterapi., Başaran, A.A. (Editör). Ülkemizde Kullanılan bazı bitkisel Droğlar. Mised Türk Eczacıları Birliğı Yayını. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 27-28, 6-10.
151. Ersöz, T. (2012). Ottan Fitofarmasötiğe; Güncel Fitoterapi., Başaran, A.A. (Editör). Ülkemizde Kullanılan bazı bitkisel Droğlar. Mised Türk Eczacıları Birliğı Yayını. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 27-28, 11-21.
152. Bonifácio, B.V., Aparecido dos Santos Ramos, M., Bento da Silva, P. and Bauab, T.M. (2014). Antimicrobial activity of natural products against *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(54), 2-10.
153. Cushnie, T.P. and Lamb, A.J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107.
154. Cogo, L.L., Monteiro, C.L.B., Miguel, M.D., Miguel, O.G., Cunico, M.M., Ribeiro, M.L., Camargo, E.R., Kussen, G.M.B., Nogueira, K.S., and Costa, L.M.D. (2010).

- Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 304–309.
155. Basile, A., Conte, B., Rigano, B., Senatore, B. and Sorbo, S.(2010). Antibacterial and antifungal properties of acetonic extract of Feijoa sellowiana fruits and its effect on *Helicobacter pylori* growth. *Journal of Medicinal Food*, 13(1), 189–195.
 156. Bonamin, F., Moraes, T.M., Kushima, H., Silva, M.A., Rozza, A.L., Pellizzon, C.H., Bauab, T.M., Rocha, L.R.M., Vilegas, W. and Hiruma-Lima, C.A. (2011). Can a Strychnos species be used as antiulcer agent? ulcer healing action from alkaloid fraction of Strychnos pseudoquina St. Hil. (Loganiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 138(1), 47–52.
 157. Hajimahmoodi, M., Shams-Ardakani, M., Saniee, P., Siavoshi, F., Mehrabani, M., Hosseinzadeh, H., Foroumadi, P., Safavi, M., Khanavi, M., Akbarzadeh, T., Shafiee, T. and Foroumadi, A. (2011). In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Natural Product Research*, 25(11), 1059–1066.
 158. Kushima, H., Nishijima, C.M., Rodrigues, C.M., Rinaldo, D., Sassá, M.F., Bauab, T.M., Di Stasi, L.C., Carlos, I.Z., Brito, A.R.M.S., Vilegas, W. and Hiruma-Lima, C.A. (2009). Davilla elliptica and Davilla nitida: gastroprotective, anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 430–438.
 159. Moraes, T.M., Rodrigues, C.M., Kushima, H., Bauab, T.M., Vilegas, W., Pellizon, C.H., Brito, A.M.S. and Hiruma-Lima, C.A. (2008). Hancornia speciosa: indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. *Journal Ethnopharmacol*, 120(2), 161–168.
 160. Stege, P.W., Davicino, R.C., Vega, A.E., Casali, Y.A., Correa, S. and Micalizzi, B. (2006). Antimicrobial activity of aqueous extracts of Larrea divaricata Cav. (jarilla) against *Helicobacter pylori*. *Phytomedicine*, 13(9), 724–727.
 161. Shang, X., Tan, Q., Liu, R., Kangying, Y., Li, P. and Zhao, G. (2013). In vitro anti-*Helicobacter pylori* effects of medicinal mushroom extracts, with special emphasis on the lion's mane mushroom Hericium erinaceus, (Higher Basidiomycetes). *Int Journal Med Mushrooms*, 15(2), 165–174.
 162. Bayaz, M. (2014). Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. *Academic Food Journal*, 12(3), 45-53.
 163. Otha, R., Yamada, N., Kaneko, H., Ishikawa, K., Fukuda, H., Fujino, T. and Suzuki, A. (1999). In vitro inhibition of the growth of *Helicobacter pylori* by oil-macerated garlic constituents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(7), 1811–1812.
 164. Kalpoutzakis, E., Aligannis, N., Mentis, A., Mitaku, S. and Charvala, C. (2001). Composition of the essential oil of two Nepeta species and in vitro evaluation of their activity against *Helicobacter pylori*. *Planta Medica*, 67(9), 880–883.

165. Rozza, A.L. and Pellizzon, C.L. (2012). Essential oils from medicinal and aromatic plants: a review of the gastroprotective and ulcer-healing activities. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 27(1), 51-63.
166. Rozza, A.L., Moraes, T.M., Kushima, H., Tanomoto, A., Marques, M.O.M., Bauab, T.M., Hiruma-Lima, C.A. and Pellizzon, C.H. (2011). Gastroprotective mechanisms of Citrus lemon (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and pinene: involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E2. *Chemico Biological Interactions*, 189(1-2), 82–89.
167. Kazemian, H., Ghafourian, S., Heidari, H., Amiri, P., Yamchi, J.K., Shavalipour, A., Houri, H., Maleki, A. and Sadeghifard, N. (2015). Antibacterial, anti-swarming and anti-biofilm formation activities of *Chamaemelum nobile* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical*, 48(4), 432-6.
168. Liu, Y., Zhang, X., Wag, Y., Chen, F., Yu, Z., Wang, L., Chen, S. and Guo, M. (2013). Effect of citrus lemon oil on growth and adherence of *Streptococcus mutans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(7), 1161-7.
169. Shetty, S.B., Mahin-Syed-Ismail, P., Varghese, S., Thomas-George, B., Kandathil-Thajuraj, P., Baby, D., Haleem, S., Sreedhar, S. and Devang-Divakar, D. (2016). Antimicrobial effects of *Citrus sinensis* peel extracts against dental caries bacteria. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 8(1), 71-77.
170. Michael, S., Laurie, M., Evelyn, R., Mark-Paul, V., Nairmeen, A. H., Scott, F. G. and Christopher, J. W. (2013). Antimicrobial Effects of Virgin Coconut Oil and Its Medium-Chain Fatty Acids on *Clostridium difficile*. *Journal of Medicinal Food*, 16(12), 1079–1085.
171. Khonkarn, R., Okonogi, S., Ampasavate, C. and Anuchapreeda, S. (2010). Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. *Food Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2122-9.
172. Mota-Vde, S., Turrini, R.N. and Poveda-Vde, B. (2015). Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain. *Revista Da Escola De Enfermagem Da U S P*, 49(2), 216-20.
173. Cabral, C., Francisco, V., Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., Cruz, M.T., Sales, F., Batista, M.T. and Salgueiro, L. (2012). Essential oil of *Juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Čelak needles. chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity. *Phytotherapy Research*, 26(9), 1352-1357.
174. Behmanesh, F., Pasha, H., Sefidgar, A.A., Taghizadeh, M., Moghadamnia, A.A, Adib-Rad, H. and Shirkhani, L. (2015). Antifungal Effect of Lavender Essential Oil (*Lavandula angustifolia*) and Clotrimazole on *Candida albicans*. *Scientifica (Cairo)*, (261397),1-5.
175. Abdelillah, A., Houcine, B., Halima,zD., Meriem, C., Imane, Z., Eddine, S.D., Abdallah, M. and Daoudi, C. (2013). Evaluation of antifungal activity of free fatty acids methyl esters fraction isolated from Algerian *Linum usitatissimum* L.

- seeds against toxigenic *Aspergillus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6),443-8.
176. Zarai, Z., Ben-Chobba, I., Ben-Mansour, R., Békir, A., Gharsallah, N. and Kadri, A. (2012). Essential oil of the leaves of *Ricinus communis* L. in vitro cytotoxicity and antimicrobial properties. *Lipids In Health And Disease*,13(11), 102.
 177. Hussain, A.I., Anwar, F., Chatha, S.A., Jabbar, A., Mahboob, S. and Nigam, P.S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 41(4), 1070-8.
 178. Li, W.G., Zhang, X.Y., Wu, Y.J. and Tian, X. (2001). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22(12), 117-20.
 179. Boruga, O., Jianu, C., Mişca, C., Golet, I., Gruia, A.T. and Horhat, F.G. (2014). *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal Of Medicine And Life*,7(3), 56-60.
 180. Abaza, M.S., Orabi, K.Y., Al-Quattan, E. and Al-Attiyah, R.J. (2015). Growth inhibitory and chemo sensitization effects of naringenin, a natural flavanone purified from *Thymus vulgaris*, on human breast and colorectal cancer. *Cancer Cell International*, 24(15), 46.
 181. Jürgens, A. and Dötterl, S. (2004). Chemical composition of anther volatiles in Ranunculaceae: genera-specific profiles in Anemone, Aquilegia, Caltha, Pulsatilla, Ranunculus, and Trollius species. *American Journal Of Botany*, 91(12), 1969-1980.
 182. Singh, O., Khanam, Z., Misra, N. and Srivastava, M.K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 82–95.
 183. Newall, C.A., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D. (1996). *Herbal medicines: a guide for health-care professionals*. Pharmaceutical Press, ix, 296.
 184. Diane, L., McKay, J. and Blumberg, B. (2006). A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Chamomile Tea (*Matricaria recutita* L.) *Phytotherapy Research*, 20(7), 519–530.
 185. Zheng, P.W., Chiang, L.C. and Lin, C.C. (2005). Apigenin induced apoptosis through p53-dependent pathway in human cervical carcinoma cells. *Life Sciences*, 76(12), 1367-1379.
 186. Mohanapriya, M., Ramaswamy, L. and Rajendran R. (2013). Health And Medicinal Properties Of Lemon (*Citrus limonum*). *International Journal Of Ayurvedic & Herbal Medicine*, 3(1), 1095-110.
 187. Kawaii, S., Yasuhiko, T., Eriko, K., Kazunori, O., Masamichi, Y., Meisaku, K.C. and Hiroshi, F. (2000). Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants. *Journal Of Agriculture And Food Chemistry*, 48(9), 3865-3871.

188. Burt, S.A. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal Of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
189. Ortuno, A.A., Baidez, P., Gomez, M.C., Arcas, I., Porras, A.G. and Del Rio, J.A. (2006). Citrus paradise and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 98(2), 351-358.
190. Duthie, G. and Crozier, A. (2000). Plant-derived phenolic antioxidants. *Current Opinion In Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 3(6), 447-51.
191. Sohn, H.Y., Son, K.H., Know, C.S. and Kang, S.S. (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis*. *Phytomedicine*, 11(7-8), 666-672.
192. Pultrini, A.M., Galindo, L.A. and Costa, M. (2006). Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. In experimental anxiety models in mice. *Life Sciences*, 78(15), 1720-1725.
193. Ahmad, M.M., Salim-ur-Rehman, Z., Iqbal-Anjum, F.M. and Sultan, J.I. (2006). Genetic Variability to Essential Oil Composition in Four Citrus Fruit Species. *Pakistan Journal Of Botany*, 38(2), 319-324.
194. Piccinelli, A. L., Mesa, M. G., Armenteros, D. M., Alfonso, M. A., Arevalo, A. C., Campone, L. and Rastrelli, L. (2008). HPLC-PDA-MS and NMR Characterization of C-Glycosyl Flavones in a Hydroalcoholic Extract of *Citrus aurantifolia* Leaves with Antiplatelet Activity. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 56(5), 1574–1581.
195. Nicolosi, E., Deng, Z. N., Gentile, A., La Malfa, S., Continella, G. and Tribulato, E. (2000). Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theoretical And Applied Genetics*, 100(8), 1155–1166.
196. Crowell, P. L. (1999). Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *The Journal Of Nutrition*, 129(3), 775–778.
197. Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D. and Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*, 104, 466–479.
198. Elangovan, V., Sekar, N. and Govindasamy, S. (1994). Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis. *Cancer Letters*, 87(1), 107–113.
199. Stapleton, A. E. and Walbot, V. (1994). Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiology*, 105(3), 881–889.
200. Shimoi, K., Masuda, S., Furogori, M., Esaki, S. and Kinae, N. (1994). Radioprotective effect of antioxidative flavonoids in c-ray irradiated mice. *Carcinogenesis*, 15(11), 2669–2672.

201. Esquenazi, D., Wigg, M.D., Miranda, M.M., Rodrigues, H.M., Tostes, J.B., Rozental, S., da Silva, A.J.R. and Alviano, C.S. (2002). Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Research In Microbiology*, 153(10), 647-652.
202. Srinivas, K., Vijayasrinivas, S., Kiran, H.R., Prasad, P.M. and Rao, M.E.B. (2003). Antibacterial Activity of *Cocos nucifera* Linn. *Indian Journal Of Pharmaceucital Sciences*, 65(1), 417-418.
203. Mahboubi, M., Kazempour, N. and Valian, M. (2013). Antimicrobial activity of natural respitol-B and its main components against poultry microorganisms. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, 16(19), 1065-8.
204. Lawal, T.O., Adeniyi B.A., Moody, J.O. and Mahady, G.B. (2012). Combination studies of Eucalyptus torelliana F. Muell. leaf extracts and clarithromycin on *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research*, 26(9), 1393-8.
205. Takahashi, T., Kokubo, R. and Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. *Lett Appl Microbiol*, 39(1), 60-4.
206. Orav, A., Kailas, T. and Muurisepp, M. (2010). Chemical investigation of the essential oil from berries and needles of common juniper (*Juniperus communis* L.) growing wild in Estonia. *Natural Product Research*, 24(19), 1789-99.
207. Chatzopoulou, P.S. and Katsiotis, S.T. (1993). Study of the essential oil from *Juniperus communis* berries (cones) growing wild in Greece. *Planta Medica*, 59(6), 554-6.
208. Ottavioli, J., Gonny, M., Casanova, J. and Bighelli, A. (2009). Chemical variability of the needle of *Juniperus communis* ssp. alpina from Corsica. *Chem Biodivers*, 6(12), 2192-9.
209. Filipowicz, N., Madanecki, P., Golebiowski, M., Stepnowski, P. and Ochocka, J.R. (2009). HS-SPME/GC analysis reveals the population variability of terpene contents in *Juniperus communis* needles. *Chem Biodivers*, 6(12), 2290-301.
210. Filipowicz, N., Kaminski, M., Kurlenda, J., Asztemborska, M. and Ochocka, J.R. (2003). Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytotherapy Research*, 17(3), 227-31.
211. Emami, S.A., Mohagheghi, Z. and Hassanzadeh, M.K. (2007). Antioxidant activity of leaves and fruits of Iranian conifers. *Evidence Based Complementary And Alternative Medicine*, 4(3), 313-9.
212. Zheljazkov, V.D., Cantrell, C.L., Astatkie, T. and Jeliaskova, E. (2013). Distillation time effect on lavender essential oil yield and composition. *Journal Of Oleo Science*, 62(4), 195-9.
213. Catherine, J.C. and Kathi, J.K. (2001). Lavender (*Lavandula* spp.). The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric *Education and Research*, 1-32.

214. Lis-Balchin, M., Deans-Stanley, G. and Eaglesham, E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour & Fragrance Journal*, 13(2), 98-104.
215. Nelson, R.R.S. (1997). *In vitro* activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40(2), 305-306.
216. Larrondo, J.V., Agut, M. and Calvo-Torras, MA. (1995). Antimicrobial activity of essences from labiates. *Microbios*, 82(332), 171-172.
217. Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M. (1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 46(5), 1739-1745.
218. Konuklugil, B. ve Bahadır, Ö. (2004). *Linum usitatissimum* L'nin Kimyasal bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 33(1), 63-84.
219. Hutchinson, J. (1973). *The Families of Flowering Plants*, 3rd Clarendon Pres, Oxford, 230.
220. Kamal-Eldin, A., Peerlkamp, N., Johnson, P., Andersson, R., Andersson, R. E., Lundgren, L. N. and Aman, P. (2001). An Oligomer from Flaxseed Composed of Secoisolariciresinoldiglucoside and 3-Hydroxy-3-Methyl Glutaric Acid Residues. *Phytochemistry*, 58(4), 587-590.
221. Degenhardt, A., Habben, S. and Winterhalter, P. (2002). Isolation of the Lignan Secoisolariciresinol Diglucoside from Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Journal Of Chromatography*, 943(2), 299-302.
222. Hirano, J., Isoda, Y. and Nishizawa, Y. (1991). Utilization of N-3 plant oils perilla and flaxseed oils. *Journal of the Japanese Oil Chemists Society*, 40(10), 942-950.
223. Young, D.B., Lin, H. and McCable, R.D. (1995). Potassium's cardiovascular protective mechanisms. *American Journal of Physiology*, 268(4-2), 825-837.
224. Levander, O.A., Ager, A.L., Morris, V.C. and May, R.G. (1991). Protective effect of ground flaxseed or ethyl linolenate in a vitamin E deficient diet against murine malaria. *Nutrition Research*, 11,941-948.
225. Rana, M., Dhamija, H., Prashar, B. and Sharma, S. (2012). *Ricinus communis* L. *International Journal of PharmTech Research*, 4(4), 1706-1711.
226. Singh, R.K., Gupta, M.K., Singh, A.K. and Kumar, S. (2010). Pharmacognostical Investigation Of *Ricinus communis* Stem. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*,1(6), 89- 94.
227. Panghal, M., Kaushal, V. and Yadav, J.P. (2011). *In vitro* antimicrobial activity of ten medicinal plants against clinical isolates of oral cancer cases. *Annals Of Clinical Microbiology And Antimicrobials*, 10(21), 1-11.

228. Lin, J.Y. and Liu, S.Y. (1986). Studies on the antitumour lectins isolated from the seeds of *Ricinus communis* (castor bean). *Toxicon*, 24(8), 757-765.
229. Peng, Y., Yuan, J., Liu, F. and Ye, J. (2005). Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal Of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 39(3-4), 431-437.
230. Oluwatuyi, M., Kaatz, G.W. and Gibbons, S. (2004). Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, 65(24), 3249-3254.
231. Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson,-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A. and Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69(3), 371-380.
232. Rezzoug, S.A., Boutekedjiret, C. and Allaf, K. (2005). Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 71(1), 9-17.
233. Leal, P.F., Braga, M.E., Sato, D.N., Carvalho, J.E., Marques, M.O. and Meireles, M.A. (2003). Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 51(9), 2520-2525.
234. Quattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J. and Begin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37(2-3), 155-162.
235. Valero, M. and Salmeron, M.C. (2003). Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 73-81.
236. Frankel, E.N., Huang, S.W., Aeschbach, R. and Prior, E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 131-135.
237. Dafarera, D.J., Ziogas, B.N. and Polissiou, M.G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576-2581.
238. Moreno, S., Scheyer, T., romano, C.S. and Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40(2), 223-231.
239. Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J. and Reglero, G. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protectio.*, 68(4), 790-795.
240. Deliorman Orhan, D., Orhan, N., Özçelik, B. and Ergun, F. (2009). Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. *Turkish Journal of Biology*, 33, 341-348.

241. Monagas, M., Hernandez-Ledesma, B., Gomez-Cordoves, C. and Bartoleme, B. (2006). Commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. leaves and grape skins: antioxidant and chemical characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 319-327.
242. Gharib-Naseri, M.K. and Ehsani, P. (2004). Spasmolytic effect of *Vitis vinifera* hydroalcoholic leaf extraction the isolated rat uterus. *Physiology and Pharmacology* 7(2), 107-114.
243. Gharib-Naseri, M.K., Navid-Hamidi, M. and Heidari, A. (2005). Vasorelaxatory effect of *Vitis vinifera* extract on rat aorta. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 93-99.
244. Felicio, J.D., Santos, R.S. and Goncalvez, E. (2001). Chemical constituents from *Vitis vinifera* (Vitaceae). *Arq Inst Biol*, 68(1), 47-50.
245. Perumalla, A.V.S. and Hettiarachchy, N.S. (2011). Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44(4), 827–839.
246. Xia, E.-Q., Deng, G.F., Guo, Y.J. and Li, H.B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622–646.
247. Jayaprakasha, G.K., Selvi, T. and Sakariah, K.K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117–122.
248. Rhodes, P.L., Mitchell, J.W., Wilson, M.W. and Melton, L.D. (2006). Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety ribier. *International Journal of Food Microbiology*, 107(3), 281–286.
249. Papadopoulou, C., Soulti, K. and Roussis, I.G. (2005). Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technology and Biotechnology*. 43(1), 41–46.
250. Burt, S.A. and Reinders, R.D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36(3), 162-167.
251. Cosentino, S., Tuberoso, C.I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(3), 130-135.
252. Ivanovic, J., Misic, D., Zizovic, I. and Ristic, M. (2012). In vitro control of multiplication of some food-associated bacteria by thyme, rosemary and sage isolates. *Food Control*, 25(1), 110-116.
253. Pozzatti P., Loreto E.S., Lopes, P.G., Athayde M.L., Santurio J.M. and Alves S.A. (2010). Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. *Mycoses*, 53(1), 12-15.

254. Yazır, Y. ve Dalçık, H. (2012). Vasküler Patolojilerin Araştırılmasında Önemli Bir Araç: Endotel Hücre Kültürü. *Koşuyolu Kalp Dergisi*, 15(3), 137-142.
255. Jaffe, E.A., Nachman, R.L. and Becker, C.G. (1973). Culture of human endothelial cells derived from umbilical cord veins: identification by morphologic criteria. *The Journal of Clinical Investigation*, 52(11), 2745-56.
256. Jaffe, E.A. (1984). *Culture and identification of large vessel endothelial cells. Biology of Endothelial Cells*. Jaffe E.A. (Ed). Martinus Nijhoff Publishers, 1-13.
257. Gargett, C.E., Bucak, K. and Rogers, P.A.W. (2000). Isolation, characterization long-term culture of human myometrial microvascular endothelial cells. *Human Reproduction*, 15(2), 293-301.
258. Grabner, R., Till, U. and Heller, R. (2000). Flow cytometric determination of E-selectin, VCAM-1, and ICAM-1 in formaldehyde-fixed endothelial cell monolayers. *Cytometry*, 40(3), 238-44.
259. Santos, W.L.C., Rahman, J., Klein, N. and Male, D.K. (1996). Control of lymphocyte adhesion to brain and aortic endothelium: ICAM-1, VCAM-1 and negative charge. *Journal of Neuroimmunology*, 66(1-2), 125-34.
260. Morgan, D.M.L. (1996). *Human Cell Culture Protocols*. Jones G.E. (Ed). "Isolation and culture of human umbilical vein endothelial cells" *Humana Press*, New Jersey, 104-109.
261. Whitmire, J.M. and Merrel, D.S. (2012). Helicobacter species methods and protocols in Houghton J.M. (Ed), *Successful Culture Techniques for Helicobacter Species: General Culture Techniques for Helicobacter pylori*. USA: *Springer Protocols*, 17-27.
262. Christensen, W.B. (1946). Urea Decomposition As A Means Of Differentiating Proteus And Paracolon Cultures From Each Other And From Salmonella And Shigella Types. *Journal of Bacteriology*, 52, 461-466.
263. Gregersen, T. (1978). Rapid Method For Distinction Of Gram-Negative From Gram-Positive Bacteria. *European Journal of Applied Microbiology And Biotechnology*, 5, 123-127.
264. Sakkas, H., Gousia, P., Economou, V., Sakkas, V., Petsios, S. and Papadopoulou, C. (2016). In vitro antimicrobial activity of five essential oils on multidrug resistant Gram-negative clinical isolates. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(3), 212-218.
265. Güzeldağ, G., Kadioglu, L., Mercimek, A. and Matyar, F. (2014). Preliminary examination of herbal extracts on the inhibition of *Helicobacter pylori*. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 11(1), 93-96.
266. Ali, S.M., Khan, A.A., Ahmed, I., Musaddiq, M., Ahmed, K.S., Polasa, H., Rao, L. V., Habibullah, C. M., Sechi, L.A. ve Ahmed, N. (2005). Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 4(20), 1-7.

267. İnternet: URL:
http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.lgcstandards-atcc.org%2Fproducts%2Fall%2FCRL-730.aspx%3Fgeo_country%3Dtr%23culturemethod&date=2018-01-08, Son Erişim Tarihi: 12.12.2017.
268. Berridge, M.V., Herst, P.M. and Tan, A.S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11(1), 127-152.
269. Su-Wen, L., Hwei-San, L., Kang-Nee, T., Tracey, D. B. and Zeenathul-Nazariah, A. (2015). Reduction of MTT to Purple Formazan by Vitamin E Isomers in the Absence of Cells. *Tropical Life Sciences Research*, 26(1), 111–120.
270. Sanjeev, K. M., Prakash, C. and Seog-Woo, R. (2010). In vitro Models, Endpoints and Assessment Methods for the Measurement of Cytotoxicity. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2(2), 87-93.
271. Mossman, T. [1983]. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
272. Denizot, F. and Lang, R. [1986]. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89, 271.
273. Fotakis, G. and Timbrell, J.A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol Lett.*, 160(2), 171-7.
274. Jacobsen, M.D., Weil, M. and Raff, M.C. (1996). Role of Ced-3/ICE-family proteases in staurosporine-induced programmed cell death. *The Journal of Cell Biology* 133(5), 1041-51.
275. Liu, X., Cui, X., Shan, N., Li, Y., Fang, X., Ding, M. And Wang, X. (2013). Downregulation of the H-2Kd gene by siRNA affects the cytotoxicity of murine LAK cells. *Cancer Cell International*, 13(1), 112.
276. Uygun, A., Tüzün, A., Yeşilova, Z., Aslan, M., Ateş, Y., Polat, Z., Erdil, A., Bağcı, S., Günhan, Ö., Gülşen, M. ve Dağalp, K. (2016). *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisinde 7 ve 14 günlük lansoprazol, amoksisilin, klaritromisin protokolünün karşılaştırılması. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 4(3), 172-175.
277. Konstantinopoulou, M., Karioti, A., Skaltsas, S. and Skaltsa, H. (2003). Sesquiterpene lactones from *Anthemis altissima* and their anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Natural Products*, 66(5), 699-702.
278. Weseler, A., Geiss, H.K., Saller, R. and Reichling, J. (2005). A novel colorimetric broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of antibiotics and essential oils against *Helicobacter pylori* *Pharmazie*, 60(7), 498-502.

279. Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Golegou, S., Basayiannis, A., Skaltsas, S. and Skaltsa, H. (2003). In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2-3), 175-179.
280. Rozza, A.L., Moraes, T.M., Kushima, H., Tanimoto, A., Marques, M.O.M., Bauab, T.M., Hiruma-Lima, C.A. and Pellizzon, C.H. (2011). Gastroprotective mechanisms of *Citrus lemon* (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and β -pinene: Involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E₂. *Chemico-Biological Interactions*, 189(1-2), 82-89.
281. Mandalari, G., Bisignano, C., Cirimi, S. and Navarra, M. (2017). Effectiveness of Citrus fruits on *Helicobacter pylori*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (8379262), 1-8.
282. Li, Y., Xu, C., Zhang, J.Y. and Tan, R.X. (2005). In vitro anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(3), 329-333.
283. Bakkir, L.K. and Bakkir, G.K. (2017). Inhibitory effect of oil pulling (Coconut oil and sesame oil) on *Helicobacter pylori*. *Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 8(2), 1034-1038.
284. Esmaili, D., Mobarez, A.M. and Tohidpour, A. (2012). Anti-*Helicobacter pylori* activities of shoya powder and essential oils of *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus*. *The Open Microbiology Journal*, 6(1), 65-69.
285. Parreira, P., Soares, B.I.G., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Reis, C.A., Martins, M.C.L. and Duarte, M.F. (2017). Eucalyptus spp. outer bark extracts inhibit *Helicobacter pylori* growth: in vitro studies. *Industrial Crops & Products*, 105(1), 207-214.
286. Nakanishi, T., Iida, N., Inatomi, Y., Murata, H., Inada, A., Murata, J., Lang, F.A., Inuma, M., Tanaka, T. and Sakagami, Y. (2005). A monoterpene glucoside and three megastigmane glycosides from *Juniperus communis* var. Depresa. *Chemical And Pharmaceutical Bulletin*, 53(7), 783-7.
287. Mahady, G.B., Pendland, S.L., Stoia, A., Hamill, F.A., Fabricant, D., Dietz, B.M. and Chadwick, L.R. (2005). In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research*, 19(11), 988-991.
288. Martini, S., D'Addario, C., Braconi, D., Bernardini, G., Salvini, L., Bonechi, C., Figura, N., Santucci, A. and Rossi, C. (2009). Antibacterial activity of grape extracts on cagA-positive and negative *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Journal of Chemotherapy*, 21(5), 507-513.
289. Brown, J.C., Huang, G., Haley-Zitlin, V. and Jiang, X. (2009). Antibacterial effects of grape extracts on *Helicobacter pylori*. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(3), 848-852.

290. Eftekhari, F., Nariman, F., Yousefzadi, M., Hadian, J. and Ebrahimi, S.N. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity and essential oil composition of *Thymus caramanicus* from Iran. *Natural Product Communications*, 4(8), 1139-1142.
291. Elaissi, A., Rouis, Z., Salem, N.A.B., Mabrouk, S., Salem, Y.B., Salah, K.B.H., Aouni, M., Farhat, F., Chemli, R., Harzallah-Skhiri, F. and Khouja, M.L. (2012). Chemical composition of 8 Eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(81), 1-15.
292. Döll-Boscardin, P.M., Sartoratto, A., Maia, B.H.L.N.S., Paula, J.P., Nakashima, T., Farago, P.V. and Kanunfre, C.C. (2012). In Vitro Cytotoxic Potential of Essential Oils of *Eucalyptus benthamii* and Its Related Terpenes on Tumor Cell Lines. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (342652), 1-8.
293. Ferrazzano, F.G., Roberto, L., Catania, M.R., Chiaviello, A., De Natale, A., Roscetto, E., Pinto, G., Pollio, A., Ingenito, A. and Palumbo, G. (2013). Screening and Scoring of Antimicrobial and Biological Activities of Italian Vulnerary Plants against Major Oral Pathogenic Bacteria. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (316280), 1-10.
294. Kuo, Z.K., Lin, M.W., Lu, I.H., Yao, H.J., Wu, H.C., Wan, C.C., Lin, S.H., Wu, S.Y., Tong, T.S., Cheng, Y.C., Yen, J.H., Ko, C.H., Chiou, S.J., Pan, I.H. and Tseng, H.W. (2016). Antiangiogenic and antihepatocellular carcinoma activities of the *Juniperus chinensis* extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(277), 1-15.
295. Moujir, L.M., Seca, A.M.L., Araujo, L., Silva, A.M.S. and Barreto, M.C. (2011). A new natural spiro heterocyclic compound and the cytotoxic activity of the secondary metabolites from *Juniperus brevifolia* leaves. *Fitoterapia*, 82(2), 225–229.
296. Teiten, M.H., Gaascht, F., Dicato, M. and Diederich, M. (2013). Anticancer bioactivity of compounds from medicinal plants used in European medieval traditions. *Biochemical Pharmacology*, 86(9), 1239–1247.
297. Cattaneo, L., Cicconi, R., Mignogna, G., Giorgi, A., Mattei, M., Graziani, G., Ferracane, R., Grosso, A., Aducci, P., Schininà, M.E. and Marra, M. (2015). Anti-Proliferative Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Extract on Human Melanoma A375 Cells. *Plos One*, 10(7), 1-18.
298. Ayesh, B.M., Abed, A.A. and Faris, D.M. (2014). In vitro inhibition of human leukemia THP-1 cells by *Origanum syriacum* L. and *Thymus vulgaris* L. extracts. *BMC Research Notes*, 7(612), 1-6.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Tuğçe Deniz TANALP
 Uyuşu : T.C
 Doğum Yeri ve Tarihi : 02.05.1980 /Sakarya
 Medeni Hali : Evli
 E-Posta Adresi : tugcedenizkaraca@gmail.com
 İletişim : 0312 484 56 35



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2008
Lisans	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006

İş Deneyimi

İş Deneyimi	Yer	Görev
2009-Devam ediyor	Gazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek yüksekokulu	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..