Özgün Araştırma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2026;60(4):437-447*/doi: 10.5578/mb.20260447

Geliş Tarihi (Received): 24.02.2026 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 14.07.2026

Redükte Glutatyon Uygulamasının *Klebsiella pneumoniae* Lipopolisakkariti ile İndüklenen İmmün Hücre Otofajisindeki Koruyucu Etkisi

Protective Effect of Reduced Glutathione Administration on *Klebsiella pneumoniae* Lipopolysaccharide Induced Immune Cell Autophagy

Derya BİRİKEN[1](ID), Nuray YAZIHAN[2,3](ID)

[1] Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
[1] *Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye.*

[2] Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Patofizyoloji Bilim Dalı, Ankara.
[2] *Ankara University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Pathophysiology, Ankara, Türkiye.*

[3] Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Gıda, Metabolizma ve Klinik Beslenme Anabilim Dalı, Ankara.
[3] *Ankara University Institute of Health Sciences, Department of Interdisciplinary Food, Metabolism and Clinical Nutrition, Ankara, Türkiye.*

**Bu çalışma, 5. Uluslararası Sağlıklı Yaşam Kongresi (5th International Congress on Healty Life) (27-28 Nisan 2021 Ankara, Türkiye)'nde sözlü sunum olarak sunulmuştur.*

Makale Atıfı: *Biriken D, Yazıhan N. Redükte glutatyon uygulamasının Klebsiella pneumoniae lipopolisakkariti ile indüklenen immün hücre otofajisindeki koruyucu etkisi. Mikrobiyol Bul 2026;60(4):437-447.*

ÖZ

Klebsiella pneumoniae, çok ilaca direnç ve enflamatuvar etkileri nedeniyle immün hücrelerde otofajik yanıtı tetikleyebilen bir patojendir. Glutatyon (γ- L-glutamil-L-sisteinil-glisin) (GSH) hücrede sentezlenen bir antioksidandır. Otofaji, hücresel homeostazın sürdürülmesinde ve enfeksiyonlara karşı immün yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu sürecin bozulması, bağışıklık sistemi hücrelerinin fonksiyonlarını olumsuz etkileyebilir. GSH'nin antioksidan ve sitoprotektif özellikleri göz önüne alındığında, enfeksiyöz stres koşullarında otofaji üzerindeki düzenleyici etkisinin araştırılması bilimsel açıdan önem taşımaktadır. Bu çalışmada, redükte GSH'nin *K.pneumoniae* lipopolisakkariti (KP LPS) ile indüklenen otofajik stres koşullarında immün hücre canlılığı, otofaji düzeyi ve enflamatuvar yanıt üzerindeki olası koruyucu etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla insan THP-1 monosit hücreleri, KP LPS (1 µg/mL) ile 24 saat süreyle uyarılarak otofajik stres modeli oluşturulmuştur. Ardından hücrelere redükte GSH 0.1, 0.5 ve 1 µg/mL konsantrasyonlarında uygulanmıştır. Hücre canlılığı, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] testiyle değerlendirilmiş, otofajinin erken evre belirteçlerinden biri olan ATG14 protein seviyeleri ile enflamatuvar yanıtın göstergesi olan TNF-α ve IL-10 sitokin düzeyleri kantitatif "enzyme-linked immunosorbent assay" yöntemiyle belirlenmiştir. KP LPS uygulaması sonucunda THP-1 hücrelerinin canlılığında yaklaşık %28 oranında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p< 0.01$). ATG14, TNFα ve IL10 düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır ($p< 0.001$). GSH uygulaması, LPS'ye bağlı TNFα artışını doza bağımlı olarak baskılamış; IL10 düzeylerini ise daha da artırarak immün yanıtın dengelenme-

İletişim (Correspondence): *Doç. Dr. Derya Biriken, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (532) 576 3858,* ***E-posta (E-mail):*** *birikenderya@gmail.com*

sine katkı sağlamıştır. Ayrıca GSH, ATG14 düzeylerini kontrol seviyelerine yaklaştırmış ve hücre canlılığını anlamlı biçimde korumuştur. Bu bulgular, redükte GSH'nin KP kaynaklı otofajik stres ortamında immün hücreleri koruyabildiğini, otofajiye özgü proteinlerin ekspresyonunu modüle ederek hücresel hasarı azalttığını ve enflamatuvar yanıtı dengeleyerek immün homeostaza katkıda bulunduğunu göstermektedir. GSH'nin bu etkileri, enfeksiyöz ve enflamatuvar hastalıkların destekleyici tedavisinde potansiyel bir ajan olarak değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır. Bu etkinin altında yatan moleküler mekanizmaların daha ayrıntılı olarak incelenmesi, GSH'nin klinik uygulamalardaki yerini güçlendirebilir.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae; glutatyon; otofaji; ATG14; enflamatuvar yanıt.*

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae is a pathogen that can trigger an autophagic response in immune cells due to its multidrug resistance and inflammatory effects. Glutathione (γ-L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) is an antioxidant synthesized in the cell. Autophagy plays a crucial role in maintaining cellular homeostasis and regulating the immune response to infections. Disruption of this process can negatively impact the functions of immune system cells. Considering the antioxidant and cytoprotective properties of glutathione, investigating its regulatory effect on autophagy under infectious stress conditions is of scientific importance. This study aimed to investigate the potential protective effects of reduced glutathione on immune cell viability, autophagy level and inflammatory response under autophagic stress conditions induced by *K.pneumoniae* lipopolysaccharide (KP LPS). For this purpose, an autophagic stress model was created by stimulating human-derived THP-1 monocyte cells with KP LPS (1 µg/mL) for 24 hours. Subsequently, reduced glutathione was applied to the cells at concentrations of 0.1, 0.5, and 1 µg/mL. Cell viability was evaluated by the the MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay and ATG14 protein levels, one of the early markers of autophagy, along with TNF-α and IL-10 cytokine levels which are indicators of the inflammatory response were determined using the quantitative enzyme-linked immunosorbent assay method. A significant decrease of approximately 28% in the viability of THP-1 cells was observed as a result of KP LPS application ($p< 0.01$). A significant increase was detected in ATG14, TNF-α and IL-10 levels ($p< 0.001$). Glutathione administration suppressed the LPS-induced increase in TNF-α in a dose-dependent manner, while further increasing IL-10 levels and contributing to the stabilization of the immune response. Furthermore, glutathione brought ATG-14 levels closer to control levels and significantly preserved cell viability. These findings demonstrate that reduced glutathione can protect immune cells in the context of KP-induced autophagic stress, reducing cellular damage by modulating the expression of autophagy-specific proteins and contributing to immune homeostasis by stabilizing the inflammatory response. These effects of glutathione make it possible to evaluate it as a potential agent in the supportive treatment of infectious and inflammatory diseases. Further investigation of the molecular mechanisms underlying this effect could strengthen the role of glutathione in clinical applications.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae; glutathione; autophagy; ATG14; inflammatory response.*

GİRİŞ

Glutatyon [γ- L-glutamil-L-sisteinil-glisin (GSH)], ökaryotik hücrelerde sentezlenen en temel endojen tiyol bazlı antioksidanlardan biridir ve hücresel redoks dengesinin korunmasında merkezi bir rol üstlenir[1,2]. Hücre içi GSH, reaktif oksijen türleri (ROS)'nin detoksifiye edilmesinde ve organel bütünlüğünün korunmasında temel bir rol oynar[3,4]. GSH; ROS, reaktif nitrojen türleri (RNS), ksenobiyotikler ve metaller gibi hem endojen hem de eksojen kaynaklı zararlı moleküllerle hızla etkileşime girerek bunları nötralize eder. Ayrıca hücre proliferasyonu, apoptoz, sinyal iletimi ve otofaji gibi hayati süreçlerde aktif bir düzenleyici molekül olarak görev yapar[1,2,5]. GSH düzeylerinin enfeksiyon patogenezi üzerindeki etkisi, son yıllarda immünoloji ve mikrobiyoloji alanındaki deneysel çalışmaların odak noktalarından biri haline gelmiştir.

Klebsiella pneumoniae, özellikle yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları ve sepsis gibi ciddi klinik tablolara yol açarak küresel ölçekte önemli bir sağlık tehdidi haline gelmiştir[6]. Son yıllarda, çok ilaca direnç (ÇİD) ve hipervirülan (hvKP) suşların yaygınlaşması, bu patojenin klinik önemini daha da artırmıştır[7]. Ülkemizde de ÇİD ve karbapeneme dirençli *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu hastane enfeksiyonlarındaki artış, yüksek mortalite oranları ve epidemiyolojik direnç profilleri ulusal literatürde geniş yer bulmaktadır[8,9.] Patojenin sahip olduğu çeşitli virülans faktörleri, bakterinin konak hücrelere tutunmasını, immün yanıttan kaçınmasını ve hücre içi hayatta kalımını kolaylaştırmaktadır[10,11].

K.pneumoniae, konak bağışıklık sisteminden korunmak amacıyla otofaji gibi hücresel savunma mekanizmalarını hedef alır. Çalışmalar, bu bakterinin özellikle makrofaj gibi fagositik hücrelerde otofajik akışı baskılayarak ve enflamatuvar yanıtı modüle ederek hayatta kalma avantajı sağladığını göstermiştir[12-14]. Dolayısıyla enfeksiyon sürecinde otofajinin kontrolü, konak savunmasının etkinliği açısından belirleyici bir faktör olarak öne çıkmaktadır. Glutatyonun immün hücrelerde otofajik yanıtı destekleyici ve ROS birikimini sınırlayıcı etkileri ise *K.pneumoniae* kaynaklı enfeksiyonlarda olası bir koruyucu mekanizma olarak değerlendirilmektedir[15]. GSH'nin bu çift yönlü etkisinin, hem enfeksiyonun patogenezinin anlaşılmasına katkı sağlayabileceği hem de yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından bir araştırma alanı oluşturabileceği öngörülmektedir.

Bu çalışmada, redükte glutatyonun, *K.pneumoniae* lipopolisakkariti (KP LPS) ile indüklenen enfeksiyon kaynaklı hücresel stres ortamında, immün hücre canlılığı, otofaji düzeyi ve enflamatuvar yanıt üzerindeki olası düzenleyici etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. KP LPS ile oluşturulan otofajik stres modeli kullanılarak, GSH'nin sitoprotektif potansiyeli, ATG14 düzeyleri üzerindeki etkisi ile birlikte proenflamatuvar yanıt göstergesi olan TNFα ve antienflamatuvar yanıt göstergesi olan IL10 sitokin düzeyleri üzerindeki düzenleyici rolü değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada THP-1 makrofaj benzeri monosit hücresi (insan lösemi monositik hücresi; DSMZ; ACC-16, Braunschweig, Almanya) kullanıldı. Hücreler, %10 fetal sığır serumu (FCS), 100 IU/ml L-glutamin ve 100 mg/mL penisilin-streptomisin (Sigma, ABD) içeren RPMI 1640 ortamında (Sigma, ABD) doku kültürü şişelerinde üretildi. Tüm hücre kültürü işlemleri, %5 CO_2 içeren nemlendirilmiş bir inkübatörde, 37 °C'de gerçekleştirildi. Deneysel uygulamalardan önce hücreler logaritmik fazda olacak şekilde çoğaltıldı ve her kuyucuğa 1×10^5 hücre düşecek şekilde 24 kuyucuklu plaklara (Nunc, Danimarka) ekildi.

Otofajik stres oluşturmak amacıyla, hücreler KP LPS (Sigma-Aldrich, L4268) ile 1 µg/mL konsantrasyonunda 24 saat süreyle inkübe edildi. Bu doz, immün hücrelerde hem enflamatuvar yanıtı hem de otofajiyi güvenilir biçimde indüklediği bilinen bir konsantrasyondur[16]. Redükte GSH (GSH; Sigma-Aldrich, G4251), steril fosfat tamponlu salin (PBS) içinde çözülerek 0.1, 0.5 ve 1 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı ve KP LPS uygulamasıyla eş zamanlı olarak hücre kültür ortamına eklendi. Uygulama süresi 24 saat olarak belirlendi. Otofajik aktivitenin değerlendirilmesinde, otofajinin erken evre belirteçlerin-

den biri olan ATG14 protein düzeyi, insan ATG14'e özgü enzyme-linked ımmunosorbent assay (ELISA) kiti (Elabscience, E-EL-H5565); TNFα ve IL10 seviyeleri, insan sitokinlerine özgü ELISA kitleri (eBiosciences, ABD, 88-7346-88, 88- 7106-88) kullanılarak kantitatif olarak ölçüldü. Hücre süpernatanları, üretici firmanın protokolüne uygun şekilde hazırlandı ve absorbans değerleri ELISA okuyucusu (Epoch Microplate Spektrofotometre, Biotek Company, ABD) ile spektrofotometrik olarak 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Her deney grubu için üçlü biyolojik tekrar yapıldı.

Canlı hücrelerin hücre çoğalmasındaki değişiklikler, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT; Sigma, ABD) boyasının absorbansına dayalı olarak değerlendirildi. Bu yöntem, MTT boyasının tetrazolyum halkasının canlı hücre mitokondrileri tarafından parçalanması temeline dayanmaktadır17. Hücreler 96 kuyucuklu plakalara (Nunc, Danimarka) her kuyucuğa 1×10^5 hücre düşecek şekilde dağıtıldıktan sonra 24 saat inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara KP LPS 1 µg/mL konsantrasyonunda eklendi ve hücreler 37 °C'de, %5 CO_2'li atmosferde 24 süreyle yeniden inkübe edildi. İnkübasyon süresinden sonra, her kuyucuğa 100 µl %10 MTT boyası (PBS'de 5 mg/mL) eklendi ve plakalar dört saat daha inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl 0.08 M HCl içeren absolute izopropanol ilave edilerek çözünmüş formazanın absorbansı 540 nm dalga boyunda, Epoch mikroplaka spektrofotometresi (Biotek, ABD) ile ölçüldü. Her deney grubu için üçlü biyolojik tekrar yapıldı. Deney grupları Tablo I'de gösterilmiştir.

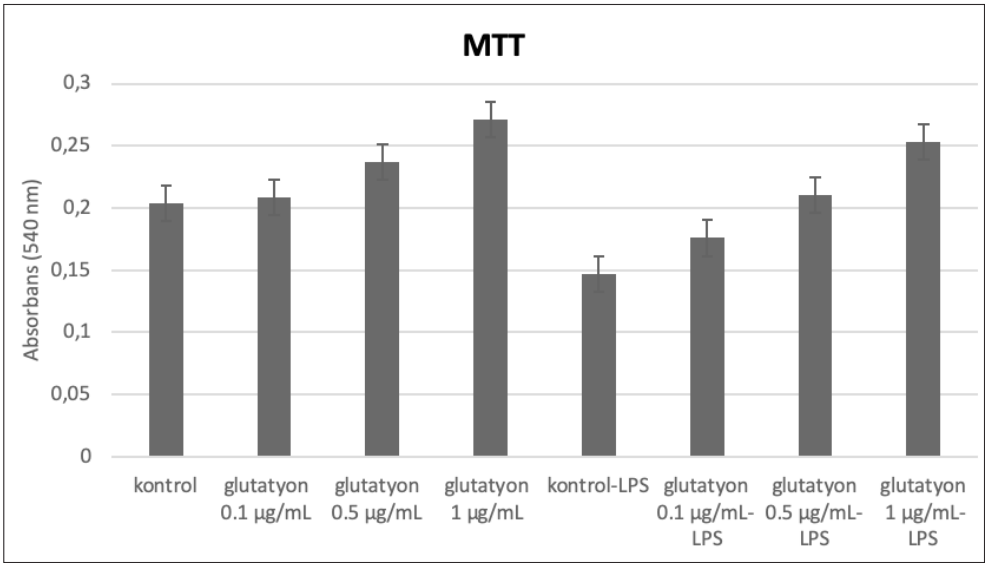
İstatistiksel Analiz

Tüm veriler, ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde ifade edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş; anlamlı farklılık saptanan durumlarda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD (honestly significant difference) Post-hoc testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p< 0.05$ olarak kabul edilmiş; bulgularda $p< 0.01$ ve $p< 0.001$ düzeyleri ayrıca belirtilmiştir.

BULGULAR

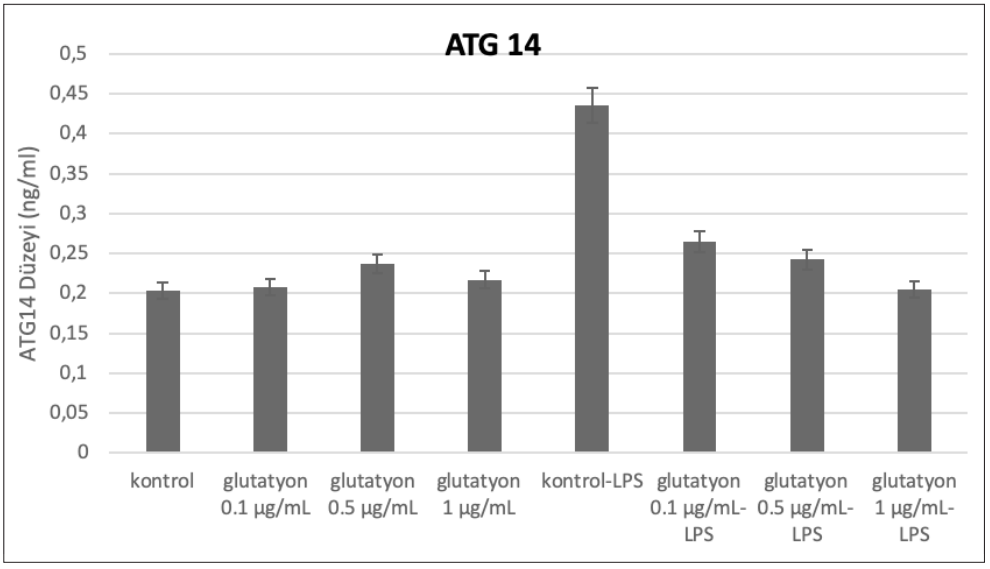
Çalışma kapsamında THP1 hücrelerinde farklı dozlarda uygulanan GSH'nin KP LPS uyarımı olmadan ve uyarımları yapıldığında GSH'nin etkisi değerlendirilmiştir. GSH etkisi 0.1, 0.5 ve 1 µg/mL dozlarında çalışılmıştır. Hücre canlılığı (MTT testi), otofaji (ATG14 düzeyleri, ELISA testi) ve enflamatuvar yanıtların (IL10 ve TNFα seviyeleri, ELISA testi) düzeylerindeki değişiklikler araştırılmıştır. Elde edilen veriler Şekil 1-4'te sunulmuştur.

Tablo I. *Deney Grupları; Redükte GSH; 0.1, 0.5 ve 1 µg/mL; K.pneumoniae Lipopolisakkarit (LPS): 1 µg/mL*
Kontrol: Thp-1 hücre kültürü-LPS
GSH 0.1 µg/mL
GSH 0.5 µg/mL
GSH 1 µg/mL
Kontrol-LPS
GSH 0.1 µg/mL-LPS
GSH 0.5 µg/mL-LPS
GSH 1 µg/mL-LPS



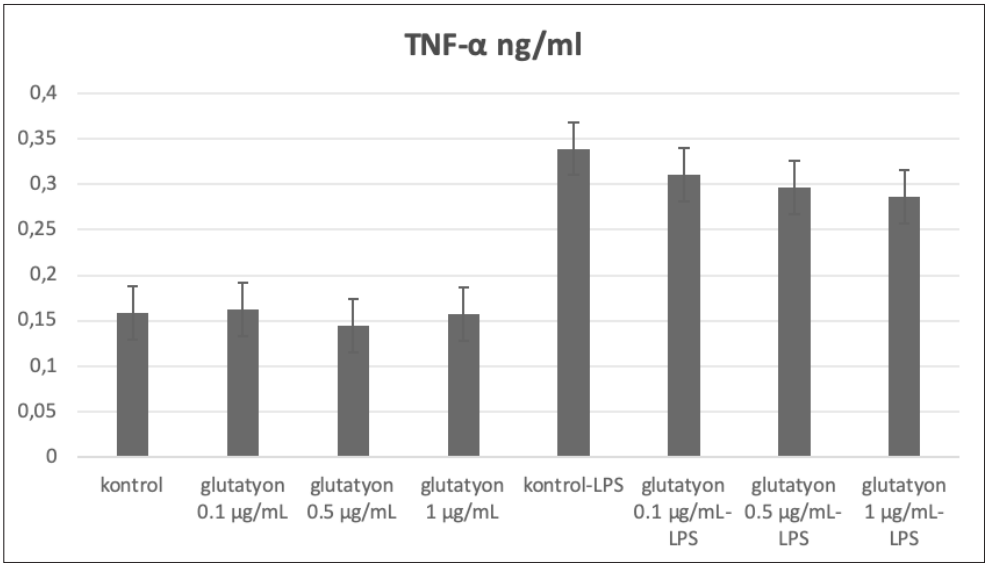
Şekil 1. *KP LPS stimülasyonu varlığında ve yokluğunda, farklı dozlarda (0.1, 0.5 ve 1 µg/mL) redükte GSH uygulamasının THP-1 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.*

**Sonuçlar ortalama ± SD olarak verilmiştir (n= 3).*



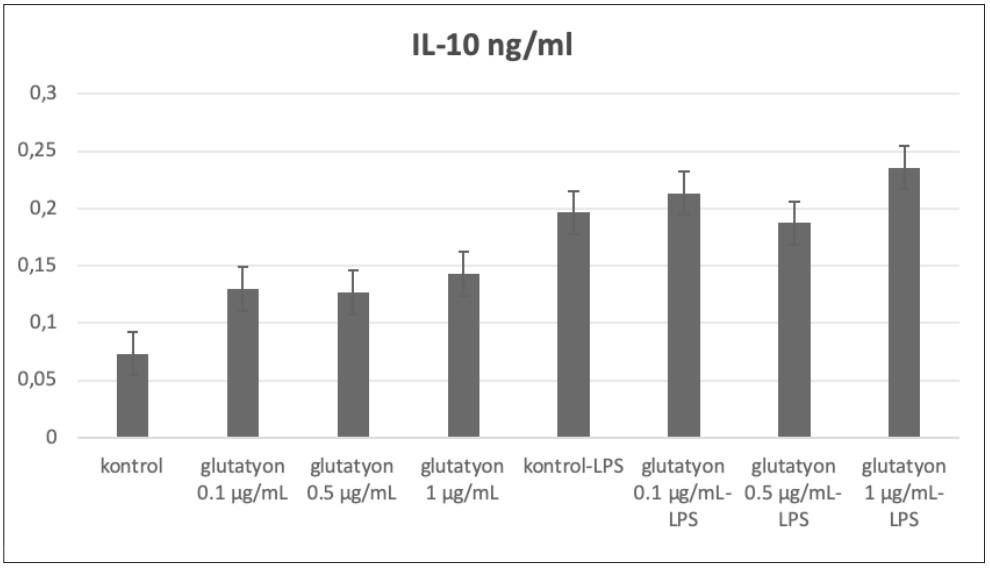
Şekil 2. *KP LPS stimülasyonu varlığında ve yokluğunda, farklı dozlarda (0.1, 0.5 ve 1 µg/mL) redükte GSH uygulamasının THP-1 hücrelerinde ATG14 düzeylerine etkisi.*

**Sonuçlar ortalama ± SD olarak verilmiştir (n= 3).*



Şekil 3. *KP LPS stimülasyonu varlığında ve yokluğunda, farklı dozlarda (0.1, 0.5 ve 1 µg/mL) redükte GSH uygulamasının THP 1 hücrelerinde TNF α düzeylerine etkisi.*

**Sonuçlar ortalama ± SD olarak verilmiştir (n= 3).*



Şekil 4. *KP LPS stimülasyonu varlığında ve yokluğunda, farklı dozlarda (0.1, 0.5 ve 1 µg/mL) redükte GSH uygulamasının THP 1 hücrelerinde IL 10 düzeylerine etkisi.*

**Sonuçlar ortalama ± SD olarak verilmiştir (n= 3).*

KP LPS uygulaması, 24 saat sonunda THP1 hücrelerinin canlılığında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma sağlamış ve yaklaşık %28 oranında düşüş meydana getirmiştir ($p< 0.01$). Bu durum, LPS'nin THP1 hücrelerinde sitotoksik bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Buna karşılık, LPS ile birlikte uygulanan GSH, hücre canlılığında gözlenen azalmayı doza bağımlı olarak baskılamıştır. GSH'nin 0.5 µg/mL ve 1 µg/mL dozları, LPS'ye bağlı canlılık azalmasını sırasıyla %3.3 ve %24.1 oranında düzeltmiş; bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p< 0.01$). Özellikle 1 µg/mL GSH + LPS grubunda hücre canlılığı kontrol düzeyine yaklaşmıştır. GSH'nin tek başına uygulandığı gruplarda (0.1–1 µg/mL) kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik saptanmamış; yalnızca 1 µg/mL dozunda hücre canlılığında %32.9 oranında artış gözlenmiştir (Şekil 1).

Otofajiye özgü bir belirteç olan ATG14 düzeyleri, KP LPS uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla anlamlı biçimde artmıştır ($p< 0.001$). Bu bulgu, LPS'nin otofajik yanıtı güçlü şekilde aktive edebileceğini desteklemektedir. GSH'nin tek başına uygulandığı gruplarda (0.1-1 µg/mL) ATG14 düzeyleri kontrol seviyelerine yakın seyretmiş; yalnızca 0.5 µg/mL dozunda sınırlı bir artış gözlenmiştir ($p< 0.01$). GSH + LPS gruplarında ise ATG14 düzeyleri doza bağımlı olarak azalmış; özellikle 1 µg/mL glutatyon uygulamasıyla LPS'ye bağlı artış yaklaşık %53 oranında baskılanmış ve kontrol seviyesine yaklaşmıştır ($p< 0.001$) (Şekil 2).

KP LPS uygulaması, THP1 hücrelerinde proenflamatuvar yanıtı anlamlı biçimde artırmış ve kontrol grubuna kıyasla yaklaşık iki katına çıkarmıştır ($p< 0.001$). GSH'nin tek başına uygulandığı gruplarda kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin bir değişiklik saptanmamış; yalnızca 0.5 µg/mL dozunda sınırlı bir azalma gözlenmiştir. LPS ile birlikte uygulandığında ise GSH, TNFα düzeylerini doza bağımlı olarak baskılamış ve özellikle 1 µg/mL dozunda bu artışı anlamlı şekilde azaltarak kontrol seviyesine yaklaştırmıştır ($p< 0.01$) (Şekil 3).

KP LPS uygulaması, THP1 hücrelerinde antienflamatuvar yanıtı da tetiklemiş ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışa yol açmıştır ($p< 0.001$). GSH'nin tek başına uygulandığı gruplarda IL10 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş; bu artış özellikle 1 µg/mL dozunda belirginleşmiştir ($p< 0.01$). LPS ile birlikte uygulandığında ise GSH, IL10 düzeylerini doza bağımlı olarak daha da yükseltmiş ve en yüksek artış 1 µg/mL GSH + LPS grubunda gözlenmiştir ($p< 0.01$) (Şekil 4).

TARTIŞMA

K.pneumoniae, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ciddi enfeksiyonlara yol açabilen, yüksek virülanslı ve ÇİD taşıyan bir gram-negatif bakteridir[6,7]. Bu bakterinin LPS yapısı, konak hücrelerde Toll-like reseptör 4 (TLR4) üzerinden güçlü bir enflamatuvar yanıtı tetikleyerek hücre canlılığını azaltmakta ve otofaji ile apoptoz mekanizmalarını aktive etmektedir[14,18]. Bu çalışmada, THP1 monosit hücrelerinde KP LPS ve farklı dozlarda GSH uygulamasının hücre canlılığı, otofaji düzeyi ve enflamatuvar yanıt üzerinde oluşturduğu değişiklikler araştırılmıştır.

Çalışmamızda GSH'nin tek başına uygulandığı düşük dozlarda (0.1–0.5 µg/mL) anlamlı proliferatif etki gözlenmemiştir. Ancak yüksek dozda (1 µg/mL) canlılıkta %32.9 oranında artış saptanması, yüksek doz GSH'nin bazal metabolik aktiviteyi değiştirebileceğine işaret etmektedir ($p< 0.001$). KP LPS uygulaması, THP1 hücrelerinde yaklaşık %28 oranında sitotoksisiteye yol açmış ($p< 0.01$) olup, bu da LPS'nin sitotoksik ve enflamatuvar yanıtlarla doğrudan ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. GSH, KP LPS ile birlikte uygulandığında sitotoksisiteyi doza bağımlı olarak baskılamış ve hücre canlılığını korumuştur ($p< 0.01$). GSH'nin bu sitotoksik etki üzerindeki düzenleyici rolü, son yıllarda artan sayıdaki çalışmada vurgulanmaktadır[19,20]. Wong ve arkadaşları[11], ÇİD KP ST258 suşunun, konakçı hücrelerde glutamin ve yağ asidi oksidasyonunu etkilediğini, hastalığa karşı toleransta kritik olan oksidan metabolik yolakları da aktive ettiğini göstermiştir. Bu çalışma GSH'nin KP LPS uyarımı sonrası oksidatif stresi azaltma potansiyeli olduğunu desteklemektedir. Bunun yanı sıra çalışmalarda GSH'nin sadece bir antioksidan değil, aynı zamanda hücresel redoks dengesini koruyan ve enflamatuvar yanıtları modüle eden bir biyomolekül olarak tanımlandığı bildirilmektedir[21,22].

Otofaji, hücresel stres yanıtlarının temel parçalarından biridir ve enfeksiyonlara karşı savunmada, hücre içi homeostazın sürdürülmesinde kritik rol oynar[11,23]. Otofajinin erken evre belirteci olan ATG14'ün artışı, enfeksiyon sırasında otofajinin devreye girdiğini göstermektedir; bununla birlikte bazı patojenlerin otofajiyi kendi lehlerine kullanarak hücre içi yaşam alanı oluşturabildiği bilinmektedir[5,24]. KP LPS'nin otofajiyi aktive ettiği ve özellikle ATG14 gibi erken belirteçlerin ekspresyonunu artırdığı daha önce gösterilmiştir[12,23].

Çalışmamızda GSH tek başına uygulandığında ATG14 düzeyleri kontrol seviyelerine yakın bulunmuş, yalnızca 0.5 µg/mL dozunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p< 0.01$). Bu durum, GSH'nin bazal koşullarda otofajiyi belirgin şekilde indüklemediğini ancak belirli dozlarda sınırlı bir aktivasyon sağlayabileceğini düşündürmektedir. KP LPS ile birlikte uygulandığında ise GSH, ATG14 düzeylerini doza bağımlı olarak azaltmış; özellikle 1 µg/mL GSH + KP LPS grubunda ATG14 düzeyi anlamlı şekilde düşerek kontrol seviyesine yaklaşmıştır ($p< 0.001$). Bu bulgu, GSH'nin enflamatuvar stres altında aşırı aktive olan otofajik yanıtı dengeleyerek hücresel homeostazı yeniden sağlayabileceğini destekler niteliktedir. Wang ve arkadaşları[14], yüksek virülanslı KP suşlarının konak hücrelerde otofaji, apoptoz ve piroptozis gibi hücre ölüm yollarını eş zamanlı olarak aktive ettiğini ve bu yanıtların antioksidan savunma sistemleri tarafından modüle edilebildiğini bildirmiştir.

TNFα sonuçları, KP LPS'nin proenflamatuvar yanıtı tetiklediğini, GSH'nin ise bu artışı doza bağımlı olarak baskılayabileceğini işaret etmektedir. Literatürlerde *K.pneumoniae*'nın LPS yapısının *Escherichia coli*'ye kıyasla daha zayıf TLR4 aktivasyonu ile immün kaçış stratejisi geliştirdiği bildirilmiştir[10]. Çalışmamızda gözlenen TNFα yanıtındaki sınırlı artış da bu mekanizma ile uyumlu olabilir. Öte yandan IL10 bulguları, KP LPS'nin antienflamatuvar yanıtı da tetiklediğini ve GSH'nin bu yanıtı daha da güçlendirebileceğini düşündürmektedir. IL10 düzeylerindeki artış, enflamatuvar stresin dengelenmesinde kritik bir rol oynarken, GSH'nin LPS ile birlikte bu artışı desteklemesi immün yanıtın yalnızca baskılanması değil aynı zamanda düzenlenmesi açısından önemli olabilir[25].

Bulgularımız, KP LPS'nin immün hücrelerde klasik bir enflamatuvar yanıt oluşturmadığı, çift yönlü yanıt oluşturduğunu bildiren çalışmalarla da uyumludur. Li ve arkadaşları[26] makrofajların KP enfeksiyonlarında hem enflamasyonu artırdığını hem de IL10 aracılığıyla immün düzenleyici yanıt/kaçış geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bu durum patojenin, doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarını aktif olarak baskılayan gelişmiş mekanizmalara sahip olduğunu desteklemektedir. Son veriler, bakterinin konakçı iç ortamına uyum sağlamak adına kendi LPS yapısında modifikasyonlar yaptığını; bu sayede TLR4 sinyal yolaklarını manipüle ederek makrofaj içinde hayatta kalabildiğini doğrulamaktadır[10,13,26].

Son yıllarda yapılan çalışmalar GSH'nin yalnızca oksidatif stres ve hücresel savunma mekanizmaları değil, aynı zamanda antibiyotik duyarlılığı ve immün homeostaz üzerinde de etkili olabileceğini ortaya koymuştur; Yin ve arkadaşları[19], eksojen GSH'nin karbapenemdirençli *K.pneumoniae* suşlarında meropenem direncini tersine çevirebildiğini, Kwon ve arkadaşları[20] ise GSH'nin KPC üreten *K.pneumoniae* suşlarında meropenem duyarlılığını artırabileceğini bildirmiştir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, redükte GSH'nin *K.pneumoniae* kaynaklı enflamatuvar süreçlerdeki koruyucu etkilerini yansıtmakla birlikte, çalışmanın bazı metodolojik kısıtlılıkları bulunmaktadır. İlk olarak, otofajik süreçlerin değerlendirilmesi erken evre belirteçlerinden biri olan ATG14 düzeyleri ile sınırlandırılmış olup, sonraki aşamalarda GSH'nin otofaji üzerindeki rolünün farklı moleküler belirteçler ve ileri tekniklerle de gösterilmesi hücresel mekanizmanın daha kapsamlı şekilde aydınlatılmasına katkı sağlayabilecektir. İkinci olarak, bu çalışmada doğrudan endotoksine bağlı enflamatuvar yanıtları incelemek amacıyla LPS tercih edilmiştir. Bu in vitro modelden elde edilen veriler, gelecekte canlı tam bakteri kullanılarak gerçekleştirilecek daha geniş kapsamlı in vitro ve in vivo çalışmalar için bir temel niteliğindedir.

Sonuç olarak bu çalışma, *K.pneumoniae* LPS'sinin THP-1 hücrelerinde sitotoksisiteye, pro/antienflamatuvar sitokin salınımına ve ATG14 aracılı otofaji aktivasyonuna yol açabileceğini göstermektedir. Redükte GSH uygulamasının ise TNFα artışını baskılayarak, IL10 düzeylerini dengeleyerek ve ATG14 aktivasyonunu kontrol seviyelerine yaklaştırarak hücre canlılığını doz bağımlı şekilde koruma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Bulgularımız, GSH'nin KP enfeksiyonlarında ve diğer enflamatuvar hastalıklarda immünmodülatör bir ajan olarak işlev görerek enflamatuvar süreçleri dengeleyip immün homeostaza katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca GSH'nin bu çift yönlü etkisi, hem aşırı enflamatuvar yanıtı baskılaması hem de immün düzenleyici mekanizmaları desteklemesi enfeksiyonun patogenezini anlamada ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinde önemli bir araştırma alanı oluşturabilir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için etik kurulu onayı gerekmemektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. Mol Aspects Med 2009; 30(1-2): 42-59. https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005
2. Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, Panayiotidis MI. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. Arch Physiol Biochem 2007; 113(4-5): 234-58. https://doi.org/10.1080/13813450701661198
3. Mari M, Morales A, Colell A, Garcia-Ruiz C, Kaplowitz N, Fernandez-Checa JC. Mitochondrial glutathione: Features, regulation and role in disease. Biochim Biophys Acta 2009; 1787(11): 1292-301.
4. Lana JV, Rios A, Takeyama R, Santos N, Pires L, Santos GS, et al. Nebulized glutathione as a key antioxidant for the treatment of oxidative stress in neurodegenerative conditions. Nutrients 2024; 16(15): 2476. https://doi.org/10.3390/nu16152476
5. Marí M, Morales A, Colell A, García-Ruiz C, Fernández-Checa JC. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. Antioxid Redox Signal 2013; 19(7): 690-701.
6. Chen TA, Chuang YT, Lin CH. A Decade-Long Review of the Virulence, Resistance, and Epidemiological Risks of *Klebsiella pneumoniae* in ICUs. Microorganisms 2024; 12(12): 2548. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122548
7. World Health Organization (WHO). Antimicrobial Resistance, Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* - Global Situation. Disease Outbreak News. 2024 Jul 31. Erişim adresi: https://www.who.int/news/item/31-07-2024-antimicrobial-resistance-hypervirulent-klebsiella-pneumoniae (Erişim tarihi: 23.10.2026)
8. Güneysu Yarar B. Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Seftazidim-Avibaktam, Fosfomisin ve Meropenem'in In Vitro Sinerjistik Etkinliğinin Araştırılması. Mikrobiyol Bul 2025; 59(2): 121-31. https://doi.org/10.5578/mb.202502135
9. Çam B. Ventilatör İlişkili Pnömoni Etkeni *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Sınıf 1 ve Sınıf 2 İntegron Gen Kasetlerinin Belirlenmesi. Mikrobiyol Bul 2025; 59(4): 508-16. https://doi.org/10.5578/mb.20250438
10. Bulati M, Busà R, Carcione C, Iannolo G, Di Mento G, Cuscino N, et al. *Klebsiella pneumoniae* Lipopolysaccharides Serotype O2afg Induce Poor Inflammatory Immune Responses Ex Vivo Microorganisms 2021; 9(6): 1317. https://doi.org/10.3390/microorganisms9061317
11. Wong Fok Lung T, Charytonowicz D, Beaumont KG, Shah SS, Sridhar SH, Gorrie CL, et al. *Klebsiella pneumoniae* induces host metabolic stress that promotes tolerance to pulmonary infection. Cell Metab 2022; 34(5): 761-74.e9. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.03.009
12. Shi Z, Li G, Zhang L, Ma M, Jia W. *Klebsiella pneumoniae* infection inhibits autophagy by alveolar type II epithelial cells. Exp Ther Med 2020; 20(4): 3703-8. https://doi.org/10.3892/etm.2020.9123
13. Nithya N, Ali AM, K. P. S, Mehto S, Antony C. Modulation of macrophage survival during *Klebsiella pneumoniae* infections. Front Cell Infect Microbiol 2026; 16: 1757662. https://doi.org/10.3389/fcimb.2026.1757662
14. Wang X, Bi C, Xin X, Zhang M, Fu H, Lan L, et al. Pyroptosis, apoptosis, and autophagy are involved in infection induced by two clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates with different virulence. Front Cell Infect Microbiol 2023; 13: 1165609. https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1165609
15. Wei S, Xu T, Chen Y, Zhou K. Autophagy, cell death, and cytokines in *K. pneumoniae* infection: Therapeutic perspectives. Emerg Microbes Infect 2023; 12(1): 2140607. https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2140607
16. Zhang L, Chen Z, Gu X, He L, Xu X, Tang X, et al. Glutathione protects against lipopolysaccharide-induced sepsis by inhibiting oxidative stress and inflammation through the Nrf2 pathway. International Immunopharmacology 2023; 123: 110753. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110753
17. Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65(1-2): 55-63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4
18. Yin J, Huang J, Zhou P, Li L, Zheng Q, Fu H. The role of TLR4/NF-κB signaling axis in pneumonia: from molecular mechanisms to regulation by phytochemicals. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 2024; 397(3): 1455-69.

19. Yin J, Liu C, Yang P, Wu Z, Du C, Shen N. Exogenous glutathione reverses meropenem resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Front Pharmacol 2023; 14: 1327230. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1327230
20. Kwon DH, Vasoya M, Sankaranarayanan D. The effect of exogenous glutathione on meropenem susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemases (KPC)-producing bacteria. The Journal of Antibiotics 2025; 78(10): 633-7. https://doi.org/10.1038/s41429-025-00850-7
21. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. Frontiers in Pharmacology 2017; 8: 117. https://doi.org/10.1159/000485089
22. Pei J, Pan X, Wei G, Hua Y. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. Front Pharmacol 2023; 14: 1147414. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414
23. Zhou Y, Zhang Y, Liu H, Chen L, Wang X. Autophagy in innate immunity: A double-edged sword against infection. Cell Mol Immunol 2023; 20(4): 321-34.
24. Iba T, Helms J, Maier CL, Ferrer R, Levy JH. Autophagy and autophagic cell death in sepsis: Friend or foe? J Intensive Care 2024; 12(1): 41. https://doi.org/10.1186/s40560-024-00754-y
25. Zhou Q, Li M, Sun Y, Chen J. A Th17 cell-intrinsic glutathione/mitochondrial-IL-22 axis protects against intestinal inflammation. Cell Metab 2024; 36(8): 1726-1744.e10. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.06.010
26. Li Y, He J, Yao K, Feng S, Zhang J. Insights into the roles of macrophages in *Klebsiella pneumoniae* infections. Cellular & Molecular Biology Letters 2025; 30: 34. https://doi.org/10.1186/s11658-025-00717-7

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.
Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.
©Telif Hakkı 2026 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.