



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

Promocijas darba
kopsavilkums

Summary of
Doctoral Thesis

Olga Sjomina-Gubareva

**VIRZĪBA UZ DROŠĀKĀM
UN EFEKTĪVĀKĀM
HELICOBACTER PYLORI
INFEKCIJAS IZSKAUŠANAS
SHĒMĀM**

**ADVANCING TOWARDS SAFER AND
MORE EFFECTIVE ERADICATION
REGIMENS FOR HELICOBACTER PYLORI
INFECTION**

Rīga 2025



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE

MEDICĪNAS UN DZĪVĪBAS ZINĀTŅU FAKULTĀTE

Olga Sjomina-Gubareva

**VIRZĪBA UZ DROŠĀKĀM UN
EFEKTĪVĀKĀM HELICOBACTER PYLORI
INFEKCIJAS IZSKAUŠANAS SHĒMĀM**

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS – PUBLIKĀCIJU KOPA

Zinātnes doktora grāda (Ph. D.) iegūšanai
medicīnas un veselības zinātņu nozaru grupā,
klīniskās medicīnas nozarē
internās medicīnas apakšnozarē

Rīga 2025

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Medicīnas un dzīvības zinātņu fakultātē un Latvijas Universitātes Klīniskās un profilaktiskās medicīnas institūtā laika posmā no 2018. līdz 2025. gadam.



KLĪNISKĀS UN
PROFILAKTISKĀS
MEDICĪNAS INSTITŪTS
MEDICĪNAS UN DZĪVĪBAS
ZINĀTŅU FAKULTĀTE



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Darbs sastāv no ievada, 5 nodaļām, nobeiguma, literatūras saraksta, pateicībām.

Darba forma: publikāciju kopa medicīnas un veselības zinātņu nozaru grupā, klīniskās medicīnas nozarē, internās medicīnas apakšnozarē.

Darba zinātniskais vadītājs: profesors *Dr. med. Mārcis Leja*, Latvijas Universitāte.

Darba recenzenti:

- 1) Prof., *Dr. med. Aldis Puķītis*, Latvijas Universitāte, Latvija;
- 2) Prof., *Dr. med. Juris Pokrotņieks*, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija;
- 3) *Prof. emeritus, Francis Mégraud*, Bordo Universitāte, Francija.

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2025. gada 27. jūnijā plkst. 13.00 Latvijas Universitātes Dabas mājā, Jelgavas ielā 1, 301. auditorijā Latvijas Universitātes Medicīnas un veselības zinātņu promocijas padomes atklātā sēdē.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU Medicīnas un veselības zinātņu nozares

promocijas padomes priekšsēdētājs _____ / prof., *Dr. med. Valdis Pīrāgs* /
(paraksts)

promocijas padomes sekretāre _____ / asoc. prof. *Dr. biol. Līga Plakane* /
(paraksts)

© Latvijas Universitāte, 2025

© Olga Sjomina-Gubareva, 2025

ISBN 978-9934-36-396-2

ISBN 978-9934-36-397-9 (PDF)

ANOTĀCIJA

Pamats. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcija ir globāls veselības izaicinājums, īpaši augošās rezistences pret antibiotikām dēļ. Šī infekcija ir ne tikai nozīmīgs kuņģa vēža riska faktors, bet arī sekmē citu, ar ļaundabīgiem audzējiem nesaistītu, kuņģa un zarnu trakta slimību attīstību. Tradicionālās ārstēšanas shēmas nereti negatīvi ietekmē zarnu mikrobiotu un var pasliktināt pacientu līdzestību, tādējādi akcentējot nepieciešamību pēc efektīvākām un drošākām terapijas alternatīvām.

Mērķi. Pētījuma galvenais mērķis bija novērtēt inovatīvus *H. pylori* eradikācijas režīmus, kas spēj nodrošināt augstu efektivitāti, vienlaikus samazinot negatīvo ietekmi uz zarnu mikrobiomu un uzlabojot pacientu līdzestību ārstēšanas shēmai. Galvenā uzmanība tika pievērsta alternatīvu shēmu izpētei un salīdzinājumam ar standarta ārstēšanu, kuras pamatā ir klaritromicīns.

Metodes. Tika izstrādāti divi paraleli pētījumi. Pirmajā (Pētījums 1) augstu devu amoksicilīna/bismuta terapija tika salīdzināta ar standarta trīskāršo klaritromicīnu saturošo režīmu. Pirmajā posmā vērtēja katra režīma efektivitāti un ar to saistīto blakusparādību spektru, kā arī ietekmi uz zarnu mikrobiotas sastāvu un rezistoma veidošanos. Otrajā (Pētījums 2) pētīja, kā probiotikas *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) pievienošana ietekmē standarta klaritromicīnu saturošās trīskāršās terapijas efektivitāti, režīma ievērošanu un blakusparādību profilu. Šajā pētījumā faktoriālais dizains paredzēja četras ārstēšanas shēmas, kurās atšķirības bija probiotikas klātbūtne vai trūkums un terapijas ilgums. Abus randomizētos kontrolētos pētījumus īstenoja plašāka GISTAR pētījuma ietvaros, iesaistot 40 līdz 64 gadus vecus dalībniekus no vispārējās populācijas. Pētījumā 1 pacientus pēc nejaušības principa iedalīja grupās, lai saņemtu vai nu standarta klaritromicīnu saturošo trīskāršo terapiju (klaritromicīns 500 mg, amoksicilīns 1000 mg un esomeprazols 40 mg divas reizes dienā, kopā 14 dienas, tālāk "AMX/CLARI"), vai augstu devu amoksicilīna/bismuta shēmu (bismuta subcitrāts 240 mg divas reizes dienā, amoksicilīns 1000 mg trīs reizes dienā, esomeprazols 40 mg divas reizes dienā, kopā 14 dienas, tālāk "AMX/BI"). Savukārt kontroles grupas dalībniekiem bija līdzīgi raksturlielumi, bet viņu *H. pylori* statuss nebija zināms.

Pētījumā 2 visi dalībnieki saņēma klaritromicīnu saturošu trīskāršo terapiju (500 mg klaritromicīna, 1000 mg amoksicilīna un 40 mg esomeprazola, divas reizes dienā). Pacientu randomizācija balstījās uz diviem faktoriem – *S. boulardii* CNCM I-745 pievienošanu (500 mg divreiz dienā), kā arī terapijas ilgumu (10 vai 14 dienas). Efektivitāti novērtēja sešus mēnešus pēc ārstēšanas, veicot kontroles urīnvielas elptestu un analizējot rezultātus gan "intention-to-treat",

gan "per-protocol" grupās. Laikā no 21. līdz 28. dienai pēc terapijas uzsākšanas, telefonintervijās fiksēja blakusparādības un pacientu līdzestību.

Pētījumā 1. tika analizēts zarnu mikrobiotas sastāvs un tā izmaiņas, izmantojot pacienta fēču paraugus, kas bija ņemti pirms eradikācijas terapijas un sešus mēnešus pēc tās. Mikroorganismu sastāva izmaiņu noteikšanai tika izmantota Shotgun metagenomiskā sekvenēšana, kas veikta ar DNBSEQ-G400 platformu (MGI, Ķīna).

Rezultāti. Pētījumā 1 piedalījās 483 *H. pylori* pozitīvi pacienti. AMX/CLARI grupai bija augstāks eradikācijas līmenis *per-protocol* analizē salīdzinājumā ar AMX/BI (88,4% pret 77,0%, $p < 0,001$), neuzrādot atšķirības līdzestībā. Terapijai raksturīgas nevēlamās blakusparādības ievērojami retāk novēroja AMX/BI grupā (56,9% pret 40,0%, $p < 0,01$). Mikrobiotas analizē atklāja būtisku antimikrobiālās rezistences gēnu skaita pieaugumu AMX/CLARI grupā, salīdzinot ar kontroli ($p = 0,05$). Tomēr alfa un beta dažādība sešus mēnešus pēc terapijas gandrīz pilnībā atgriezās sākotnējā stāvoklī. Pētījumā 2, kurā piedalījās 404 dalībnieki, 10 dienu probiotiku terapijas gadījumā tika konstatēts augstāks eradikācijas līmenis (70,8% pret 54,6%, $p = 0,022$), bet 14 dienu terapijas gadījumā tas netika reģistrēts. Kombinējot probiotiku apakšgrupas, tājās bija nenozīmīgi augstāka efektivitāte *per-protocol* analizē (90,6% pret 85,0%, $p = 0,183$). *S. boulardii* klātbūtne samazināja nevēlamo blakusparādību biežumu ($p = 0,033$), īpaši caurejas gadījumus ($p = 0,032$) 14 dienu režīmā. Tomēr pēc Bonferroni korekcijas piemērošanas atšķirība starp testiem vairs nebija nozīmīga.

Secinājumi. Augstu devu amoksicilīna/bismuta terapija ir saistīta ar zemu nevēlamo blakusparādību biežumu, salīdzinot ar standarta klaritromicīnu saturošo trīskāršo terapiju, tomēr šīs terapijas shēmas relatīvi zemā efektivitāte neattiecas uz tās rutīnas lietošanu. Nepieciešama turpmāka izpēte, lai modificētu augstas devas amoksicilīna/bismuta saturošu režīmu efektivitātes uzlabošanai.

Pētījuma rezultāti neatbalsta ieteikumu plaši pievienot *S. boulardii* *H. pylori* eradikācijas shēmām, jo efektivitāte būtiski neuzlabojās. Tomēr tendence uz augstāku efektivitāti 10 dienu *intention-to-treat* ārstēšanas grupā un samazināts nevēlamo blakusparādību skaits 14 dienu *per-protocol* grupā pamato turpmāku izpēti lielākos pētījumos.

Standarta klaritromicīnu saturoša terapija ievērojami paaugstināja rezistenci pret antibiotikām zarnu mikrobiomā, un šī ietekme saglabājās vismaz sešus mēnešus. Šis atklājums liecina, ka, plānojot *H. pylori* eradikāciju populācijas mērogā, priekšroka jādod citām terapijām – it īpaši gadījumos, kad runa ir par profilaktisku ārstēšanu veselai populācijai. Pirms jaunu, uz antibiotikām balstītu ārstēšanas režīmu ieviešanas (piemēram, kuņģa vēža profilaksē) ir jāizvērtē to ilgtermiņa ietekme uz zarnu rezistoma veidošanos.

SATURS

IEVADS	7
Tēmas aktualitāte	7
Pētījuma mērķis	9
Zinātniskā hipotēze	10
Zinātniskie uzdevumi	10
Pētījuma novitāte	10
Pētījuma rezultātu starptautiska atzišana	11
Dalība zinātniskajos projektos	11
Zinātniskās publikācijas	11
Uzstāšanās starptautiskajos kongresos un konferencēs	13
Citas zinātniskās aktivitātes	17
LITERATŪRAS PĀRSKATS	18
Ieskats <i>H. pylori</i> ārstēšanas vēsturē	18
Pārskats par pētītajam izskaušanas shēmām	19
Standarta trīskāršā terapija	20
Lielas devas PSI-amoksicilīna duālā terapija	21
Bismuta nozīme <i>H. pylori</i> izskaušanā	21
Probiotiku nozīme <i>H. pylori</i> izskaušanā	21
MATERIĀLI UN METODES	23
Kopējais dizains	23
<i>H. pylori</i> statusa novērtējums	23
Ārstēšanas līdzekļi	23
Efektivitāte, blakusparādības un ārstēšanas rekomendāciju ievērošana	24
Turpmāka zarnu mikrobiotas novērtēšana	24
Paraugu apstrāde un mikrobiotas analīze	24
Datu analīze	25
Ētika	26
REZULTĀTI	27
Pacientu līdzestība	29
Nevēlamo notikumu biežums	29

Izskaušanas shēmu efektivitāte	31
Zarnu mikrobiotas kontroles novērtējums (Pētījums 1)	33
Vispārējs mikrobu kopienas pārskats Pētījumā 1	34
ARG atšķirības starp abiem terapijas režīmiem un kontroles grupu	38
Rezistences gēnu mehānismu raksturojums	40
DISKUSIJA	41
SECINĀJUMI	46
TURPMĀKIE VIRZIENI UN SECINĀJUMU ĪSTENOŠANA	48
PATEICĪBA	49
AVOTI	99

IEVADS

Tēmas aktualitāte

Pastāvīga *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcija ir nozīmīgs riska faktors virknei kuņģa-zarnu trakta slimību, kā arī traucējumiem ārpus kuņģa-zarnu trakta. Tai ir īpaši liela nozīme kuņģa kancerogēnēzes daudzpakāpju procesā [1, 2]. *H. pylori* izplatība pasaulē ievērojami variē – dažādās populācijās tā svārstās no 20% līdz 90%, bet vidēji sasniedz aptuveni 44% [3, 4]. Jāuzsver, ka infekcijas prevalence pieaug līdz ar vecumu, vidēji sasniedzot 32,6% bērnu vidū un 48,6% pieaugušo populācijā. Šī tendence galvenokārt skaidrojama ar dažādu paaudžu atšķirīgās ekspozīcijas ietekmi [3, 5]. *H. pylori* infekcija ir iesaistīta 90% ne-kardijas kuņģa vēža gadījumos [6]. Saskaņā ar GLOBOCAN datiem, 2022. gadā reģistrēti vairāk nekā 968 000 jaunu kuņģa vēža gadījumu un gandrīz 660 000 nāves gadījumi, kas padara šo vēzi par piekto izplatītāko vēzi un piekto biežāko ar vēzi saistītās mirstības cēloni pasaulē. Dažās Dienvidaustrumāzijas un Vidusāzijas valstīs tas ir visbiežāk sastopamais vēzis un galvenais onkoloģisko saslimšanu mirstības iemesls vīriešiem [7].

Kioto Globālā Konsensa Ziņojumā [*Kyoto Global Consensus Report*] iesaka *H. pylori* infekcijas eradikāciju pirms pirmsvēža izmaiņu rašanās [8]. Eiropā *H. pylori* eradikācijas galvenā ārstēšanas stratēģija (ar dažiem izņēmumiem) līdz šim lielākoties ir bijusi 14 dienu standarta trīskāršā terapija, kuras pamatā ir klaritromicīns [9]. Jaunākie Eiropas *H. pylori* ārstēšanas reģistra dati liecina, ka arī pašlaik populārākā sākotnējā terapija galvenokārt balstās uz trīskāršu shēmu ar amoksicilīnu un klaritromicīnu (39% pirmās izvēles ārstēšanas gadījumos), lai gan daudzviet Eiropas Savienībā empīriskai pirmās izvēles ārstēšanai to nevajadzētu ieteikt. Šī pieeja uzrāda nepietiekamu eradikācijas efektivitāti – tikai 81,5% [9]. Minētā tendence var liecināt vai nu par nepietiekamu izpratni par atjaunotajiem ieteikumiem, vai arī par ierobežotu piekļuvi efektīvākiem eradikācijas režīmiem, kas pieņemamības ziņā neatpaliek no standarta klaritromicīnu saturošās trīskāršās terapijas.

Pieaugošā *H. pylori* antibakteriālās rezistences izplatība un attiecīgi samazināts ārstēšanas efektivitātes rādītājs ir nopietns globāls izaicinājums [10, 11]. Reagējot uz šo problēmu, Māstrihtas/Florences VI vadlīnijās (Maastricht/Florence VI Consensus Report) ir atbalstīts 14 dienu ārstēšanas ilgums (līdz šim 2005. gadā ieteica 7 dienas, bet 2010. gadā – 10 dienas), lai uzlabotu terapijas panākumu līmeni [1, 12]. Tomēr standarta trīskāršā terapija nereti izraisa nevēlamas blakusparādības, tostarp caureju un sliktu dūšu, savukārt ārstēšanas

ilguma palielināšana rada vēl smagākas un ilgstošākas nevēlamās reakcijas [13, 14].

Papildus tam, ka *H. pylori* kļūst arvien rezistentāka pret standarta antibiotikām, tostarp klaritromicīnu un fluorhinoloniem [15], antibiotikas var veicināt kopējo rezistentu baktēriju skaita pieaugumu zarnās [16]. Rezistence pret antibiotikām var veidoties, pateicoties dažādiem mehānismiem – ar viena nukleotīda polimorfismu (*single-nucleotide polymorphisms* jeb SNP) vai iegūstot antimikrobiālo rezistenci veicinošus gēnus (*resistance-conferring genes* jeb ARG) [17-19]. ARG starp baktērijām var tikt pārnesti, izmantojot mobilos ģenētiskos elementus, bakteriofāgus un dabiskas transformācijas ceļā [20, 21]. Makrolīdu grupai raksturīgie rezistences mehānismi ir eflukss, mērķa ribosomālās RNS modifikācija un zāļu enzimatiska inaktivācija [22, 23]. Pētījumi rāda, ka līdz šim visizplatītākais rezistences mehānisms ir bijusi ribosomālā metilēšana [24], ko visbiežāk izraisa *erm* (eritromicīna ribosomu metilāzes) gēni (kodē 23S rRNS metiltransferāzes), un *mph* gēni (kodē no GTP atkarīgās makrolīdu 2'-fosfotransferāzes) [22, 23, 25]. Ribosomālā mērķa metilēšana var izraisīt krustenisko rezistenci pret makrolīdiem, linkozamīdiem un streptogramīnu B (*MLS_B fenotips*). Vēl viens svarīgs iegūtās rezistences veicinātājs ir antibiotiku eflukss, kas samazina zāļu intracelulāro uzkrāšanos. Balstoties uz strukturālajām un funkcionālajām iezīmēm, transportētāji tiek iedalīti piecās “virssaimēs”: galvenā veicinātāju virssaime (*major facilitator superfamily* jeb MFS), ATP saistošo kasešu virssaime (*ATP-binding cassette* jeb ABC), mazā multirezistences virssaime (*small multidrug resistance* jeb SMR), rezistences-nodulācijas-šūnu dalīšanās virssaime (*resistance-nodulation-cell division* jeb RND) un multi-zāļu/toksisko savienojumu ekstrūzijas virssaime (*multidrug and toxic compound extrusion superfamily* jeb MATE) [24, 26, 27]. Tāpat baktērijas aizsargājas pret metālu, piemēram, cinka, vara un dzelzs, toksisku iedarbību, kļūstot izturīgas pret vairākiem medikamentiem un metāliem [28]. Rezistences mehānismu daudzveidība izraisa rezistences fenotipu dažādību un samazina makrolīdu efektivitāti infekcijas slimību ārstēšanā [24, 29].

Antimikrobiālā rezistence pašlaik tiek uzskatīta par vienu no būtiskākajiem izaicinājumiem veselības aprūpes sistēmā. Paredzams, ka līdz 2050. gadam mirstība no infekcijas slimībām antimikrobiālās rezistences dēļ pārsniegs mirstību no ļaundabīgiem audzējiem. Mūsu paaudzes prioritāte ir tādu efektīvu terapiju izstrāde, kas neizraisītu ilgtermiņa negatīvas izmaiņas mikrobiomā [30].

Eiropā joprojām plaši izmantots klaritromicīnu saturošs trīskāršais eradikācijas režīms, kaut arī vadlīnijas neiesaka to lietot teritorijās ar augstu *H. pylori* rezistences līmeni [9, 12]. Klaritromicīna un metronidazola lietošana veicina rezistentu enterokoku (*Enterococci*) un enterobaktēriju (*Enterobacteria*) celmu veidošanos, savukārt amoksicilīns šādu risku nepaliekina [9]. Tādējādi lielu amoksicilīna devu lietošana var kļūt par vienu no iespējamām metodēm rezistences riska samazināšanai. Šā režīma terapeitiskās efektivitātes pieaugumu

var panākt, pievienojot bismutu saturošus ārstēšanas līdzekļus [15, 16, 31]. Ir novērots, ka bismuta preparāti paaugstina eradikācijas efektivitāti, pārvarot *H. pylori* rezistenci, turklāt tie nav saistīti ar mikrobioma rezistences izraisīšanu, kā arī nopietnām blakusparādībām [6].

Bismuta loma eradikācijas terapijā kļūst arvien nozīmīgāka, jo nesen tika ieviesta fiksēta kapsulas kombinācija, kas satur bismuta savienojumus kopā ar antibiotikām [32]. Pētījumi rāda, ka bismuta pievienošana standarta trīskāršajai terapijai var paaugstināt eradikācijas līmeni, īpaši, ja baktērijas ir rezistentas [16]. Kuņģī bismuts reaģē ar kuņģa skābi, veidojot pārsvarā bismuta oksihlorīda nogulsnes. Lai gan šī viela ir ļoti aktīva, tā ir īpaši efektīva kā nešķīstošs pretmikrobu līdzeklis. Savukārt paaugstināts pH palīdz stabilizēt amoksicilīnu [33].

Uz bismutu balstītas terapijas arvien plašāk izmanto gan standarta četrkāršo režīmu sastāvā, gan kombinācijā ar citām shēmām – piemēram, trīskāršajām terapijām, kuru pamatā ir klaritromicīns, lai uzlabotu efektivitāti un novērstu *H. pylori* rezistences problēmu. Uzskata, ka šīm terapijām ir minimāla ietekme uz zarnu rezistomu [34]. Mūsu pētījumā šis faktors tika ņemts vērā, izvēloties bismutu saturošu kombināciju. Iepriekšējie pētījumi pierādījuši, ka bismuts neizraisa ilgtermiņa ietekmi uz *E. coli* rezistenci [35, 36].

Turklāt daudzos pētījumos ir dokumentēta dažādu probiotiku efektivitāte *H. pylori* nomākšanā, kas tiek panākta gan ar imunoloģiskiem, gan neimunoloģiskiem mehānismiem. Tie ietver saimnieka imūnās atbildes reakcijas modulāciju un tiešu ietekmi uz baktēriju proliferāciju [37]. Piemēram, ir pierādīts, ka *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) spēj kavēt *H. pylori* adhēziju uz kuņģa gļotādas, kas ir skaidrojams ar šo probiotiķu neiramīdāzes aktivitāti [37, 38].

Kopsavilkumā var secināt, ka *S. boulardii* efektivitāte *H. pylori* eradikācijā ir atšķirīga, tomēr vairākos pētījumos tika konstatēti mēreni uzlabojumi eradikācijas rādītājos un blakusparādību biežuma, jo īpaši caurejas, samazināšanās.

Pētījuma mērķis

Šī doktorantūras pētījuma eksperimentālā aspekta mērķis bija identificēt un novērtēt *H. pylori* izskaušanas shēmu, kas efektīvi līdzsvaro augstu efektivitāti ar minimālu ilgtermiņa ietekmi uz zarnu mikrobiomu. Pētījuma mērķis bija izstrādāt ārstēšanas pieeju, kas samazina nevēlamās blakusparādības un uzlabo ārstēšanas shēmas ievērošanu no pacietā puses. Lai to panāktu, mēs veicām divus paralēlus pētījumus, kam bija līdzīga metodoloģija, kurā salīdzinātas dažādas *H. pylori* izskaušanas shēmas, katru definējot pēc atšķirīgām īpašībām.

Zinātniskā hipotēze

Augstas devas amoksicilīna/bismuta režīma izmantošana vai tradicionālās makrolīdu saturošās trīskāršās terapijas modifikācija, pievienojot probiotiku *S. boulardii*, *H. pylori* eradikācijas terapijā:

1. uzlabo ārstēšanas rezultātus, samazinot nevēlamo blakusparādību skaitu;
2. uzlabo eradikācijas efektivitāti;
3. uzlabo ārstēšanas noteikumu ievērošanu;
4. ne-makrolīdu, augstas devas amoksicilīna/bismuta režīma izmantošana saglabā zarnu mikrobioma veselību, neradot ilgtermiņa izmaiņas un samazinot rezistomu veidošanas risku.

Zinātniskie uzdevumi

1. Novērtēt *H. pylori* ne-makrolīdu augstas devas amoksicilīna/bismuta shēmas vai modificētās tradicionālās makrolīdus saturošās trīskāršās shēmas ar un bez *S. boulardii* pievienošanas, koncentrējoties uz vispārējiem izskaušanas panākumu rādītājiem.
2. Novērtēt ar pētītajām *H. pylori* izskaušanas shēmām saistīto nevēlamo notikumu biežumu un smagumu, tostarp *S. boulardii* pievienošanas ietekmi.
3. Noteikt *H. pylori* izskaušanas shēmu ievērošanu no pacientu puses un identificēt faktorus, kas ietekmē ārstēšanas protokolu ievērošanu.
4. Salīdzināt *H. pylori* eradikācijas režīmu ietekmi uz zarnu mikrobiomu, novērtējot augstas devas amoksicilīna/bismuta saturoša režīma ilgtermiņa ietekmi salīdzinājumā ar standarta trīskāršu terapiju, kuras pamatā ir klaritromicīns.
5. Veicināt sabiedrības veselības vadlīniju izstrādi, nosakot *H. pylori* eradikācijas stratēģijas, kas optimizē efektivitāti, vienlaikus samazinot negatīvo ietekmi uz zarnu mikrobioma veselību un pacientu labsajūtu.

Pētījuma novitāte

1. Šis pētījums ir daļa no inovatīvā GISTAR pētījuma – plaša mēroga populācijas pētījuma, kurā apvienotas nejausinātās izlases veida kontrolēta pētījuma priekšrocības ar plašākiem populācijas līmeņa atklājumiem par *H. pylori* eradikāciju un tās potenciālo lomu kuņģa vēža profilaksē.
2. Šis pētījums ir pirmais visaptverošais novērtējums par augstu amoksicilīna devu kombinācijā ar bismutu kā pirmās izvēles ārstēšanas metodi *H. pylori* eradikācijai kaukāziešu populācijā.
3. Tas fokusējas uz ilgtermiņa ietekmi uz rezistomu: atšķirībā no iepriekšējiem pētījumiem, kuros galvenokārt tika vērtētas īstermiņa mikrobioma un rezistoma izmaiņas, mūsu pētījums pagarina novērošanas periodu līdz sešiem

mēnešiem, sniedzot ieskatu par dažādu eradikācijas režīmu ilgstošu ietekmi uz zarnu rezistomu.

4. Šis ir pirmais plaša mēroga randomizētais kontrolētais pētījums Eiropā, kurā salīdzināts nevēlamo blakusparādību biežums dažādos ārstēšanas režīmos, pārbaudot ārstēšanas komponentu un ilguma ietekmi.
5. Pētījumā ir integrēti modernākie bioinformātikas paiplaini jeb konvejieri (piemēram, StaG-mwc, Kraken2, Bracken, AmrPlusPlus) un visaptverošas statistiskās korekcijas, lai nodrošinātu datu precizitāti, mazinātu novirzes un sniegtu ticamus secinājumus.

Pētījuma rezultātu starptautiska atzišana

Atklājumi par klaritromicīna lietošanas ietekmi uz rezistentu celmu rašanos zarnu mikrobiomā 2024. gadā tika publicēti žurnālā *Gut*. Šis žurnāls ir īpaši ievērojams ar Māstrihtas vadlīniju publicēšanu, kuras tiek uzskatītas par vienām no autoritatīvākajām *H. pylori* ārstēšanas un ar to saistīto pētījumu jomā.

Dalība zinātniskajos projektos

1. Laborante: “Kuņģa vēža izraisītās mirstības mazināšanas iespēju izpēte Latvijas apstākļos”, ZD2014/29893, 07.09.2016.–30.11.2016.
2. Zinātniskā asistente: “Pētījumi onkoloģijas un onkoprevencijas jomā, tostarp biomarķieru un mikrobioma pētījumi (Biomarķieru un dabas vielu izpēte akūtu un hronisku slimību diagnostikai un personalizētai ārstēšanai)”, AAP2016/AZ138, 12.05.2017.–30.09.2018., 01.07.2022.–31.12.2023.
3. Zinātniskā asistente: “Kuņģa vēža izraisītās mirstības prevencijas pasākumu kompleksa ieviešanas pētījums, likvidējot *H. pylori* infekciju un savlaicīgi atklājot kuņģa pirmsvēža stāvokļus”, LZP2018/23, 01.10.2018.–31.08.2019.
4. Zinātniskā asistente: “*H. pylori* eradikācijas shēmas optimizācija masveida kuņģa vēža prevencijas pasākumiem”, ESS2019/317, 01.09.2019.–31.03.2022.

Zinātniskās publikācijas

1. **Sjomina O**, Poļaka I, Suhorukova J, Vangravs R, Paršutins S, Knaze V, Park JY, Herrero R, Murillo R, Leja M. Randomised clinical trial: efficacy and safety of *H. pylori* eradication treatment with and without *Saccharomyces boulardii* supplementation. *Eur J Cancer Prev.* 2024 May 1;33(3):217-222. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000858. Epub 2023 Nov 6. PMID: 37942999.
2. **Sjomina O**, Vangravs R, Ļeonova E, Poļaka I, Pūpola D, Čivkulis K, Jeniceka A, Paršutins S, Stonāns I, Park JY, Engstrand L, Leja M. Clarithromycin-containing triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication is inducing increased long-term resistant bacteria communities in the gut.

- Gut. 2024 Jun 6;73(7):1214-1215. doi: 10.1136/gutjnl-2023-329792. PMID: 37364984.
3. Gašenko E, Bogdanova I, **Sjomina O**, Aleksandraviča I, Kiršners A, Ancāns G, Rudzīte D, Vangravs R, Sīviņš A, Škapars R, Tzivian L, Polaka I, Folkmanis V, Leja M. Assessing the utility of pepsinogens and gastrin-17 in gastric cancer detection. *Eur J Cancer Prev.* 2023 Sep 1;32(5):478-484. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000791. Epub 2023 Mar 13. PMID: 36912185.
 4. Robles C, Rudzite D, Polaka I, **Sjomina O**, Tzivian L, Kikuste I, Tolmanis I, Vanags A, Isajevs S, Liepniece-Karele I, Razuka-Ebela D, Parshutin S, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. Assessment of Serum Pepsinogens with and without Co-Testing with Gastrin-17 in Gastric Cancer Risk Assessment-Results from the GISTAR Pilot Study. *Diagnostics (Basel).* 2022 Jul 19;12(7):1746. doi: 10.3390/diagnostics12071746. PMID: 35885649; PMCID: PMC9325279.
 5. **Sjomina O**, Lielausa A, Rūdule A, Vangravs R, Paršutins S, Poļaka I, Daugule I, Stonāns I, Park JY, Leja M. Randomised clinical trial: comparison of efficacy and adverse effects of a standard triple clarithromycin-containing regimen with high-dose amoxicillin and bismuth therapy in *Helicobacter pylori* eradication. *Eur J Cancer Prev.* 2022 Jul 1;31(4):333-338. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000718. Epub 2021 Dec 20. PMID: 35471812.
 6. Gasenko E, Isajevs S, Camargo MC, Offerhaus GJA, Polaka I, Gulley ML, Skapars R, Sivins A, Kojalo I, Kiršners A, Santare D, Pavlova J, **Sjomina O**, Liepina E, Tzivian L, Rabkin CS, Leja M. Clinicopathological characteristics of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019 Nov;31(11):1328-1333. doi: 10.1097/MEG.0000000000001521. PMID: 31569122; PMCID: PMC8560222.
 7. Case report: Epstein-Barr virus positive gastric carcinoma / Gasenko E., Hegmane A., Plate S., Zvirbule Z., Elsberga E., **Sjomina O.**, Preimane S., Skapars R., Pavlova J., Tzivian L., Sivins A. // *Integrative Gastroenterology and Hepatology* Vol. 2, N 1 (2019), p. 145-151.
 8. **Sjomina O**, Pavlova J, Niv Y, Leja M. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2018 Sep;23 Suppl 1:e12514. doi: 10.1111/hel.12514. PMID: 30203587.
 9. **Sjomina O**, Pavlova J, Daugule I, Janovic P, Kikuste I, Vanags A, Tolmanis I, Rudzite D, Polaka I, Kojalo I, Liepniece-Karele I, Isajevs S, Santare D, Pirags V, Pahomova J, Dzerve V, Tzivian L, Erglis A, Leja M. Pepsinogen test for the evaluation of precancerous changes in gastric mucosa: a population-based study. *J Gastrointest Liver Dis.* 2018 Mar;27(1):11-17. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.271.pap. PMID: 29557410.
 10. **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Evita Gashenko, Nadezda Vorobjova, Armands Sivins. Case report: High-volumetric atypical hemihepatectomy in patient with colorectal cancer with extensive metastatic disease /

References: p. 4. // Liver and Pancreatic Sciences. Vol. 2, N 1 (2017), p. 1-4. doi: 10.15761/LPS.1000110.

11. **Sjomina O**, Heluwaert F, Moussata D, Leja M. Helicobacter pylori infection and nonmalignant diseases. Helicobacter. 2017 Sep;22 Suppl 1. doi: 10.1111/hel.12408. PMID: 28891136.

Uzstāšanās starptautiskajos kongresos un konferencēs

1. Reflux esophagitis associated with false negative cases in pepsinogen testing for precancerous gastric lesions / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Inguna Ebela, Ilva Daugule, Rolando Herrero, Mārcis Leja, Daiga Santare, **Olga Sjomina-Gubareva**, Sergey Parshutin // Microbiota in Health and Disease : European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG): Abstracts 2704-8845 Vol. 4, N 3: e735 (2022), p. 68. doi: 10.26355/mhd_20229_735.
2. Addition of Saccharomyces Boulardii to Standard Triple Therapy in Eradication of H. pylori: Comparison of Adverse Events and Effectiveness / **Olga Sjomina-Gubareva**, Jekaterīna Suhorukova, Aiga Rūdule, Reinis Vangravs, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Park Jin Yong, Mārcis Leja // Medicina (Kaunas) Vol. 58, Suppl. 1: Abstracts of the 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia (2022), p. 168.
3. The comparison of standard triple therapy effectiveness after addition of Saccharomyces boulardii / **Olga Sjomina-Gubareva**, Reinis Vangravs, Aiga Rūdule, Inese Poļaka, Sergejs Paršutins, Dārta Pūpola, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // EHMSG – 35th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, September 8-10, 2022, Glasgow, United Kingdom : Abstracts / European Helicobacter and Microbiota Study Group. Glasgow, 2022. P02.27, p. 54-55. doi: 10.26355/mhd_20229_735.
4. Effect of smoking on serum pepsinogen values modified by the presence of Helicobacter pylori / D. Razuka-Ebela, I. Polaka, S. Parshutin, I. Ebela, I. Daugule, D. Santare, **O. Sjomina**, M. Leja. (Abstracts) // European Journal of Clinical Investigation Vol. 52, SI 1: 56th Annual Scientific Meeting, 8-10 June, 2022, Bari, Italy (2022), Abstract Number: 56ASM-0210, p. 169.
5. Current Smoking Associated with Precancerous Gastric Lesions “Missed” by Serologic Pepsinogen Testing / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Sergei Parshutin, Inguna Ebela, Ilva Daugule, Daiga Santare, **Olga Sjomina**, Herrero Rolando, Jin Young Park, Marcis Leja. // Medicina (Kaunas) Nr. 58, Suppl.1: Abstracts of the 80th International Scientific Conference of the University of Latvia Riga, Latvia (2022), p. 22.
6. Addition of Saccharomyces boulardii to standard triple therapy in eradication of H. pylori: adverse events and compliance / **Olga Sjomina-Gubareva**,

- Jekaterīna Suhorukova, Reinis Vangravs, Aiga Rūdule, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Dārta Pūpola, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // EHMSG – 34th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Virtual Conference, September 18, 2021 : Accepted Abstracts / European Helicobacter and Microbiota Study Group [Virtual Conference], 2021. P02.30, p. 42-43.
7. Comparison of the adverse events and compliance to standard triple therapy in eradication of *H. pylori* with *Saccharomyces boulardii* addition / **Olga Sjomina-Gubareva**, Jekaterīna Suhorukova, Aiga Rūdule, Reinis Vangravs, Dārta Pūpola, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // GASTRO 2021 Prague : A Joint Meeting WGO/CSG, 9-11 December, 2021, Prague, Czech Republic : Abstract Book Prague : GUARANT International spol. s r.o, 2021, p. 190.
 8. The comparison of side effects and effectiveness of standard triple therapy with clarithromycin and alternative high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / A. Lielausa, **O. Sjomina**, A. Rūdule, J. Priedola, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, I. Poļaka, E. Cine, G. Šķenders, D. Ražuka-Ebela, M. Leja // Helicobacter Vol. 25, SI: 33rd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer (EHMSG), Virtual Conference, September 12, 2020 : Accepted Abstracts (2020), Meeting Abstract: EP2.27, p. 33.
 9. Presence and severity of symptom-based gastroesophageal reflux disease associated with levels of pepsinogen / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Sergei Parshutin, Daiga Santare, Inguna Ebela, **Olga Sjomina**, Raul Murillo, Rolando Herrero, Jin Young Park, Marcis Leja // Medicina (Kaunas) Nr.56, Suppl.1: Abstracts of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia Riga, Latvia (2020), p. 21.
 10. Serologically determined gastric atrophy associated with lifestyle, dietary factors and *Helicobacter pylori* status / Razuka-Ebela D., Polaka I., Parshutin S., Daugule I., Ebela I., Santare D., **Sjomina O.**, Herrero R., Park J. Y., Leja M. // United European Gastroenterology Journal Vol. 8, Suppl.8: 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, Poster number P0193, p. 228. doi: 10.1177/2050640620927345.
 11. Prolongation of hospitalization period among malnourished patients: contributing factors / **Olga Sjomina**, Aleksejs Derovs, Alina Graubergere, Aleksandra Jenicka, Alise Lielausa, Ilva Daugule, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Oļesja Basina, Mārcis Leja, Lilian Tzivian // Medicina (Kaunas) Vol. 55, Suppl.1 : International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, February 22, 2019 : Abstracts (2019), p. 54.
 12. Reliability of nutrition assessment tools in predicting prolonged hospitalization / **Olga Sjomina**, Aleksejs Derovs, Alina Graubergere, Aleksandra

- Jeniceka, Alise Lielausa, Ilva Daugule, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Oļesja Basina, Mārcis Leja, Lilian Tzivian // *Medicina (Kaunas)* Vol. 55, Suppl.1 : International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, February 22, 2019 : Abstracts (2019), p. 55.
13. Contributing factors of prolonged hospitalization in malnourished patients / **Olga Sjomina**, Lilian Tzivian, Alina Graubergere, Aleksandra Jeniceka, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Olesja Basina, Aleksejs Derovs // International Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”, April 1-3, 2019, Riga, Latvia : Abstracts Rīga : Rīga Stradiņš University, 2019.
 14. The comparison of side effects of standard triple therapy and high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / **O. Sjomina**, A. Lielausa, A. Rūdule, E. Martinsone, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, H. Gorskis, I. Poļaka, A. Jeniceka, E. Cine, G. Šķenders, D. Razuka-Ebela, M. Leja // *Helicobacter* Vol. 24, S1: The Year in Helicobacter : 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5-7 September 2019 (2019), Meeting Abstract: P1.19.
 15. The comparison of effectiveness of standard triple therapy and high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / **O. Sjomina**, A. Lielausa, A. Rūdule, E. Martinsone, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, H. Gorskis, I. Poļaka, A. Jeniceka, E. Cine, G. Šķenders, D. Razuka-Ebela, M. Leja // *Helicobacter* Vol. 24, S1: The Year in Helicobacter : 32nd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5-7 September 2019 (2019), Meeting Abstract: W3.3.
 16. Precancerous lesions surveillance and *H. pylori* infection prevalence changes / Z. Dzērve, I. Kikuste, **O. Sjomina**, I. Tolmanis, A. Kirsners, A. Vanags, I. Gulbe, D. Stirna, S. Isajevs, I. Bogdanova, M. Leja. (Poster Round P07 Gastric Cancer and Cancerogenesis) // *Helicobacter: 31st International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer (EHMSG)*; September 14-15, 2018, Kaunas, Lithuania Vol. 23, Suppl. 1, SI (2018), Meeting Abstract: P07.30, p. 86.
 17. Association between Pepsinogen Level and *H. Pylori* Status: a Population-based Study / **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Ilva Daugule, Pavel Janovic, Alina Ivanova, Alise Lielausa, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pahomova, Vilnis Dzerve, Lilian Tzivian, Andrejs Erglis, Marcis Leja. (Gastroenterology, Gastrointestinal Microbiota & *H.pylori* Endorsed by European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG)) // 76th International Scientific Conference on

- Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018 : Book of Abstracts Riga : University of Latvia, 2018, p. 49-50.
18. Epidemiology of Gastric Cancer in Latvian Population / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018 : Book of Abstracts Riga : University of Latvia, 2018, p. 57.
 19. Characteristics of Epstein-Barr Virus-positive Gastric Cancer in Latvia / Evita Gasenko, Sergejs Isajevs, M. Constanza Camargo, G. Johan Offerhaus, Inese Polaka, Margaret L. Gulley, Roberts Skapars, Armands Sivins, Ilona Kojalo, Arnis Kirsners, Daiga Santare, Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Elina Liepina, Liliana Tzivian, Charles S. Rabkin, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018: Book of Abstracts Riga: University of Latvia, 2018, p. 61.
 20. GastroPanel Results in Caucasian Patients with Gastric Cancer / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Armands Sivins, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018.
 21. GastroPanel performance in Caucasian patients with gastric cancer / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Armands Sivins, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Poster) // Helicobacter: 30th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer; France, Bordeaux, September 7-9, 2017 Vol. 22, Suppl. 1, SI (2017), Meeting Abstract: P04.35, 1 p.: tab., fig. doi: 10.13140/RG.2.2.35070.08003.
 22. Characteristics of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer in Latvia / E. Gasenko, S. Isajevs, M. C. Camargo, I. Polaka, G. J. A. Offerhaus, M. Gulley, I. Kojalo, A. Kirsners, J. Pavlova, **O. Sjomina**, E. Liepina, L. Tzivian, C. S. Rabkin, M. Leja. (Poster). References: p. 1 // Helicobacter: 30th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer; France, Bordeaux, September 7-9, 2017 Vol. 22, Suppl. 1, SI (2017), Meeting Abstract: P04.23, 1 p. : fig., tab. doi: 10.13140/RG.2.2.34231.21929.

23. Dynamics of pepsinogen values in an average-risk Caucasian population within a median 3.5 year follow-up period / J. Pavlova, **O. Sjomina**, I. Kikuste, A. Vanags, D. Rudzite, I. Polaka, I. Kojalo, I. Liepniece-Karele, S. Isajevs, D. Santare, V. Pirags, J. Pahomova, V. Dzerve, A. Erglis, M. Leja ... [et al.] // *Helicobacter* : 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer; Magdeburg, Germany, 15-17 september, 2016 Vol. 21, Suppl. 1, SI (2016), Meeting Abstract: P04.17, p. 123. doi: 10.1111/hel.12344.
24. Is pepsinogen screening in general Caucasian population justified: results from a cross-sectional population study in Latvia / I. Kojalo, **O. Sjomina**, J. Pavlova, I. Kikuste, A. Vanags, I. Poļaka, I. Liepniece-Karele, S. Isajevs, D. Šantare, D. Rudzīte ... [et al.] // *Helicobacter* : 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer; Magdeburg, Germany, 15-17 september, 2016 Vol. 21, Suppl. 1, SI (2016), Meeting Abstract: W5.6, p. 89. doi: 10.1111/hel.12344.
25. Dynamics of pepsinogen values in an average and high-risk Caucasian population within a median 3.5 year follow-up period / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pahomova, Vilnis Dzerve, Andrejs Erglis, Marcis Leja ... [et al.]. References: p. 123 // *Helicobacter* : EHMSG 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer Magdeburg : European Helicobacter & Microbiota Study Group, 2016. Vol. 21, Suppl. 1, Special N :SI (2016), Meeting Abstract: P04.17, p. 123. ISSN 1083-4389.
26. Yield of pepsinogen testing in a general population sample of caucasian origin / **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Pavels Janovics, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pohomova, Vilnis Dzerve, Andrejs Erglis, Marcis Leja // *UEGW: 24th United European Gastroenterology Week Volume 4, Suppl. 1* (2016), p. 696.

Citas zinātniskās aktivitātes

1. Latvijas Universitātes Doktorantūras skolas “Doktorantūras skola translācijas izpētē medicīnā” priekšsēdētāja 2016.–2019. g.
2. Latvijas Universitātes 75. zinātniskās konferences Medicīnas sekcijas (2017. gada 24. februārī): organizēšana un tēžu krājuma izveidošana.

LITERATŪRAS PĀRSKATS

leskats *H. pylori* ārstēšanas vēsturē

H. pylori atklāšana, ko 1982. gadā veica Maršals un Vorens, bija nozīmīgs pavērsiens kuņģa un zarnu trakta slimību patoģenēzes izpratnē [39]. Vēlāk, 1989. gadā baktērija *Campylobacter pylori* tika pārdēvēta par *Helicobacter pylori*, un līdz 1990. gadam cilvēku patoloģijās tika atklātas citas *Helicobacter* sugas. Tajā pašā gadā pirmais klīniskais pētījums apstiprināja, ka *H. pylori* izskaušana var izārstēt divpadsmitpirkstu zarnas čūlu. Epidemioloģiski 1991. gadā tika konstatēts, ka *H. pylori* ir kuņģa vēža riska faktors. Šo atklājumu rezultātā tika izveidota gastrītu klasifikācija pēc Sidnejas sistēmas [40, 41].

Minētie secinājumi kļuva par pamatu eksperimentālās *H. pylori* vakcīnas pētījumiem un atklājumam, ka kuņģa gļotādas limfoido audu (MALT) limfomu var izārstēt, izskaužot *H. pylori*. Rezultātā Pasaules Veselības organizācija (PVO) 1994. gadā pasludināja *H. pylori* par I klases kancerogēnu [42].

1996. gadā gastrītu klasifikācijas Sidnejas sistēma tika atjaunināta, un Māstrihtas I konsensa ziņojumā bija noteiktas starptautiskas ārstēšanas vadlīnijas, tostarp septiņu dienu trīskārša *H. pylori* terapija. Klīniskajos pētījumos 1999. gadā uz protonu sūkņa inhibitoru (PSI) balstītā trīskāršā terapija pierādīja augstu efektivitāti, kļūstot par pasaules standartu peptiskās čūlas slimības ārstēšanā. Tomēr no 2000. gada pieaugoša *H. pylori* rezistence pret klaritromicīnu un levofloksacīnu veicināja četrkāršās terapijas ieviešanu [40].

2008. gadā tika ieviesta OLGA sistēma (Operative Link on Gastritis Assessment) un vēlāk, 2010. gadā – OLIGIM sistēma (Operative Link on Gastritis/Intestinal-Metaplasia Assessment), lai prognozētu kuņģa vēža risku, izmantojot gastrīta histoloģisku stadiju [43]. Tajā pašā gadā reģionos ar augstu rezistenci pret klaritromicīnu par pirmās izvēles terapiju kļuva bismuta četrkāršā terapija, un uz PSI balstītās trīskāršās terapijas ilgums tika pagarināts līdz 14 dienām. Turklāt Māstrihtas IV/Florences konsensa ziņojumā tika sniegti atjauninājumi un jaunas stratēģijas *H. pylori* infekcijas ārstēšanai [44].

Savukārt 2012. gadā tika publicētas MAPS vadlīnijas (Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach) par kuņģa priekšvēža bojājumu un agrīna kuņģa vēža uzraudzību [45]. 2015. gadā Kioto konsensā ar *H. pylori* saistītais gastrīts tika definēts kā infekcijas slimība, un Māstrihtas V/Florences konsensa ziņojumā tika ieteikta eradikācijas terapija visiem cilvēkiem ar *H. pylori* infekciju, pat ja tie ir asimptomātiski, lai novērstu ar infekciju saistītas patoloģijas [1, 8].

2016. gadā kā efektīvāka PSI alternatīva parādījās *kālīja* jonu (K+) konkurētspējīgi skābes blokatori (P-CAB), kas sākotnēji bija pieejami tikai Japānā [46]. 2019. gadā Taipejas konsensā par skrīningu un ārstēšanas stratēģijām kuņģa vēža profilaksei tika rekomendēts eradicēt *H. pylori* visiem inficētajiem, jo īpaši augsta riska populācijās. Personām ar paaugstinātu kuņģa vēža risku, piemēram, kuņģa vēža pacientu pirmās pakāpes radniekiem, par visizdevīgāko tika uzskatīta skrīninga un ārstēšanas stratēģija. Kopumā *H. pylori* infekcijas skrīnings un ārstēšana tika uzskatīta kā visrentablākā jauniem pieaugušajiem no reģioniem ar augstu saslimstību ar kuņģa vēzi. Turklāt tika ieteiktas lokāli efektīvas ārstēšanas shēmas atbilstoši vietējai antibiotiku pārvaldībai [47]. Tajā pašā gadā MAPS vadlīnijas tika atjauninātas līdz MAPS II. Atjauninātajās vadlīnijās lielāks uzsvars tika likts uz *H. pylori* eradikāciju visiem pacientiem ar kuņģa atrofiju vai zarnu metaplāziju, lai novērstu kuņģa vēža progresēšanu neatkarīgi no tā, vai infekcija pacientiem bija simptomātiska vai asimptomātiska [48].

Nesen, 2021. gadā, Māstrihtas VI/Florences konsensa ziņojumā tika uzsvērti antibiotiku pārvaldības izšķirošā nozīme, ieteikts nelietot shēmas ar augstu neefektivitāti, kas saistīta ar rezistenci, kā arī ņemt vērā vietējos antibiotiku rezistences modeļus, pacientu īpatnības un eradikācijas apstiprināšanas nozīmi. Tika apspriesta arī probiotiku lietošana kā papildlīdzekļi antibiotiku terapijai, ņemot vērā pierādījumus, kas apstiprina to nozīmi tādu blakusparādību mazināšanā kā ar antibiotikām saistīta caureja, lai gan probiotikas joprojām nav ieteicamas kā primārā ārstēšana [12, 40].

Pārskats par pētītajam izskaušanas shēmām

H. pylori joprojām ir unikāla starp citām lielākajām infekcijām, jo pretmikrobu uzraudzības principi nav rezultējušies tās pretmikrobu terapijas izstrādē [49]. Parasti pretmikrobu terapijas pamatā ir jutības pārbaude, tās mērķis ir augsts izārstēšanas līmenis, un to atbalsta uzraudzības programmas ar regulāriem atjauninājumiem par rezistenci un rezultātiem. Taču *H. pylori* ārstēšanas metodes tradicionāli vairāk veidotas, izmantojot “izmēģinājumu un kļūdu” pieeju, savukārt ieteikumi un vadlīnijas bieži vien izriet no dažādu shēmu salīdzinošas analīzes [49].

Izstrādātas dažādas shēmas, tostarp trīskāršās terapijas, kas apvieno PSI ar amoksicilīnu un klaritromicīnu, metronidazolu, fluorhinolonu vai rifabutīnu; bismuta četrkāršā terapija; un duālā terapija, kas sastāv no PSI un amoksicilīna. Turklāt tika ieviestas dažādas četru zāļu shēmas, piemēram, secīga, vienlaicīga, hibrīda un reversā hibrīda terapija, tostarp PSI, amoksicilīns, klaritromicīns un metronidazols. Nesēnā jaunā zāļu klase P-CAB izraisīja interesi par šīm terapijām, jo ir pierādīts, ka tās spēcīga skābes nomākšana palielina amoksicilīna saturošu shēmu efektivitāti [50].

Saskaņā ar jaunākajiem Eiropas *H. pylori* pārvaldības reģistra (Hp-EuReg) datiem no 2024. gada rezistence pret klaritromicīnu, levofloksacīnu un metronidazolu Eiropā jau pārsniedz 15%. Rezistence pret antibiotikām visbiežāk tika novērota, lietojot metronidazolu (31%), savukārt rezistence pret amoksicilīnu un tetraciklīniem bija retāk sastopama [51]. Māstrihtas VI/Florences konsensa grupa iesaka veikt jutības testus (molekulāros vai balstītus uz baktēriju kultūru), pirms izvēlas pirmās izvēles zāles, ņemot vērā antibiotiku pārvaldības principus. Tomēr praksē jutībai pielāgota pieeja joprojām nav vispārēji atzīta. Reģionos ar augstu (>15%) vai nezināmu klaritromicīna rezistenci, kā arī tur, kur jutības pārbaude nav pieejama, būtu jāizskata bismuta četrkāršās vai citas terapijas iespējas [12].

Standarta trīskāršā terapija

Līdz 2000. gadam trīskāršā terapija, kas apvieno PSI un divas antibiotikas (parasti amoksicilīnu un klaritromicīnu), pakāpeniski zaudēja efektivitāti, tomēr tā joprojām ir viena no pasaulē biežāk lietotajām pirmās izvēles shēmām, lai gan izārstēšanas līmenis tagad ir zem 80% [50]. Saskaņā ar Hp-EuReg, kurā tika analizētas vairāk nekā 20 tūkstoši pirmās izvēles empiriskās *H. pylori* ārstēšanas metodes, visbiežāk tika nozīmēta standarta trīskāršā klaritromicīna shēma, ko izmantoja 39% pacientu. Kopējais izārstēšanas rādītājs bija zems – 82,7% 7 dienu terapijai, 84,2% 10 dienu terapijai un 86,2% 14 dienu terapijai [9]. Pēdējie dati rāda, ka 22% antibiotiku naivo pacientu ir klaritromicīna rezistence, un šai pacientu grupai eradikācijas rādītājs, izmantojot standarta trīskāršo klaritromicīna terapiju, samazinājās līdz 75% [51, 52],

Pasaulē ir maz teritoriju, kurās ir zema rezistence pret klaritromicīnu, un plaši izplatītās rezistences dēļ empirisku trīskāršu terapiju, kas satur klaritromicīnu, metronidazolu vai fluorhinolonus, parasti vairs neiesaka. Reģionos ar zemu klaritromicīna rezistenci un lokāli apstiprinātu efektivitāti standarta PSI-klaritromicīna režīmu joprojām var ieteikt kā pirmās izvēles terapiju [12].

Iepriekš rezistence pret klaritromicīnu lielākajā daļā valstu bija zem 5%. Diemžēl tā kļūst arvien izplatītāka visā pasaulē, jo to plaši izmanto otorinolaringoloģijā, elpceļu infekciju gadījumos, pediatrijā un citās medicīnas jomās. Rezistences mehānismos liela loma ir izplūdes sūkņū (*efflux pump*) sistēmas pārmaiņām [10, 53].

Klaritromicīna lietošana ir saistīta ar ievērojamām blakusparādībām: līdz 86% gadījumu tiek ziņots par nevēlamiem notikumiem tā lietošanas periodā, galvenokārt saistībā ar kuņģa-zarnu trakta problēmām, piemēram, pacienti sūdzas par sliktu dūšu, vemšanu, caureju un diskomfortu vēderā [53]. Turklāt klaritromicīns ir citohroma P450 (CYP) 3A4 enzīma inhibitors, kas var ietekmēt citu zāļu metabolismu un radīt hepatotoksicitātes risku.

Lielas devas PSI-amoksicilīna duālā terapija

Daudzos reģionos, kur rezistence pret klaritromicīnu un metronidazolu pārsniedz 15%, standarta trīskāršās shēmas efektivitāte ir krietni samazinājusies. Rezultātā ir ieviestas alternatīvas ārstēšanas metodes, piemēram, bismuta četrkāršā terapija, četrkāršā terapija bez bismuta (bez BQT vai vienlaicīgā terapija) un secīgā terapija [54]. Lai gan šīs ārstēšanas shēmas ir efektīvas izskaušanas nolūkā, tās bieži izraisa plašu blakusparādību klāstu, jo palielinās antibiotiku skaits. Tas savukārt pasliktina ārstēšanas shēmas ievērošanu no pacienta puses.

Vēl viena nopietna problēma saistībā ar minēto shēmu lietošanu ir iespējamā *H. pylori* multizāļu rezistences (*multi-drug resistance* jeb MDR) attīstība. Ir identificēta trīskārša, četrkārša un pieckārša MDR, un Ķīnā ziņots pat par seškārtīgu MDR. Tas ir signāls tam, ka radusies nepieciešamība pēc stingrākas antibiotiku lietošanas kontroles [55].

Amoksicilīna rezistences rādītāji Amerikas Savienotajās Valstīs un Eiropā joprojām ir zemi (mazāk nekā 1%) [51, 52]. PSI un amoksicilīna divkāršā terapija ar standarta devām uzrādīja nepieņemamu efektivitāti, bet augstāki izskaušanas rādītāji tika sasniegti, palielinot devas un palielinot PSI un amoksicilīna lietošanas biežumu [54, 56]. Daži pētījumi pierādīja, ka lielas devas PSI-amoksicilīna duālās terapijas efektivitāte bija vēl augstāka, salīdzinot ar bismuta četrkāršo shēmu [57]. Nesenās metaanalīzes, ko veica Zhu un citi, mērķis bija novērtēt lielas devas PSI-amoksicilīna efektivitāti un drošību *H. pylori* infekcijas ārstēšanā salīdzinājumā ar citām shēmām. Tā ietvēra 15 pētījumus ar 3818 pacientiem. Efektivitāte atbilst pirmās izvēles ārstēšanas efektivitātei, taču tai bija mazāk blakusparādību [54].

Relatīvi mazāku blakusparādību rašanās biežumu un intensitāti pierāda arī citi pētījumi. Piemēram, pētījumi liecina, ka amoksicilīnam ir mazāks ar antibiotikām saistītais caurejas risks [58].

Bismuta nozīme *H. pylori* izskaušanā

Bismuta subsalicilāts kalpo kā antacīds, pretcaurejas, pretiekaisuma un baktericīds līdzeklis. Kuņģī tas sadalās salicilātā un bismutā, kur bismuts zemas uzsūkšanās dēļ darbojas lokāli ar baktericīdu efektu un samazina iekaisumu gremošanas traktā [53]. Pastāv pieņēmums, ka, papildinot duālo terapiju ar bismutu, var sasniegt augstāku ārstēšanas efektivitāti, vienlaikus lietojot tikai vienu antibiotiku, kuras rezistences līmenis ir zems. Tas var mazināt nelabvēlīgo notikumu biežumu un uzlabot pacientu līdzestību.

Probiotiku nozīme *H. pylori* izskaušanā

Māstrihtas VI/Florences konsensā atzīmēts, ka noteiktas probiotikas var būt noderīgas, lai samazinātu kuņģa-zarnu trakta blakusparādības, kas rodas

H. pylori eradikācijas terapijas laikā [12]. Iepriekšējie pētījumi ir parādījuši, ka probiotikas, īpaši *S. boulardii*, uzrāda aktivitāti pret *H. pylori in vitro* un dzīvnieku modeļos [59]. Šim raugam piemīt plašas pretmikrobu īpašības, kas ne tikai kavē baktēriju un parazītu augšanu, bet arī neitralizē baktēriju virulences faktorus. Tam ir arī antitoksīna iedarbība, tas palīdz atjaunot normālu zarnu mikrobiotu, normalizē zarnu gļotādas funkcijas un nodrošina aizsargājošas īpašības gan *in vivo*, gan *in vitro* [60, 61]. Līdz ar to *S. boulardii* efektivitāte blakusparādību, īpaši vēdera sāpju un ar antibiotikām saistītas caurejas, mazināšanā ir labi pierādīta dažādos pētījumos [61-63]. Sajevska [Szajewska] un citu veiktā visaptverošā metaanalīze, kurā bija iesaistīti 915 subjekti, norādīja uz ievērojamu izskaušanas rādītāju pieaugumu (no 71% līdz 80%) un ievērojamu blakusparādību, īpaši caurejas, samazināšanos (no 24,3% līdz 12,9%), kad standarta shēmai tika pievienots *S. boulardii* [62].

Lactobacilli ir vēl viena probiotika, kas ir plaši pētīta *H. pylori* izskaušanas kontekstā. Metaanalīzes kopumā liecina, ka šī ģints var efektīvi samazināt blakusparādības, kas saistītas ar *H. pylori* antibiotiku terapiju, īpaši, ja probiotiku lieto ilgāk par divām nedēļām [12, 59]. Turklāt daži pētījumi ir pierādījuši, ka izskaušanas papildināšana ar palīg līdzekli *Lactobacillus* varētu uzlabot efektivitāti [59]. Savukārt *Bifidobacterium bifidum* efektīvi uzlabo ar *H. pylori* infekciju saistītus dispepsijas simptomus [64].

Metaanalīzes rezultāti, kurā tika iekļauti 34 nejaušināti kontrolēti pētījumi ar 9004 pacientiem, liecina, ka ar probiotikām papildinātās terapijas rezultāti bija labāki nekā vienkārši standarta trīskāršajai terapijai. Konkrēti, *Bifidobacterium-Lactobacillus* un *Bifidobacterium-Lactobacillus-Saccharomyces* papildterapijas bija saistītas ar ievērojamu ieguvumu, sasniedzot augstu eradikācijas līmeni (attiecīgi 78,3% un 88,2 %) un provocējot mazāk blakusparādību [65].

MATERIĀLI UN METODES

Kopējais dizains

Kontrolēts nejaušināts klīniskais pētījums tika veikts notiekošā plaša populācijas pētījuma GISTAR (*Helicobacter pylori* eradikācijas un pepsinogēna testēšanas multicentrisks nejaušināts pētījums kuņģa vēža mirstības profilaksei) ietvaros [66], aicinot piedalīties 40–64 gadus vecus dalībniekus no vispārējās populācijas. Veselu personu saraksti bija pieejami centralizētajā pacientu reģistrā vai arī tos sniedza ģimenes ārsti. Tika iekļauti visi pētāmie, kas atbilda minētajām prasībām un piekrita piedalīties.

Izslases kārtībā pusei pētījuma populācijas tika veiktas *H. pylori* pārbaudes un, ja tās bija pozitīvas, nozīmēta eradikācijas terapija, bet otrai pusei, kas tika iedalīta kontroles grupā, tika nodrošināta parasta aprūpe. Dalībnieki, kuriem tika nozīmēta *H. pylori* eradikācijas terapija, tika randomizēti vienā no ārstēšanas grupām. Subjektus, kas ziņoja par iepriekšēju *H. pylori* eradikāciju, neiekļāva.

H. pylori statusa novērtējums

H. pylori statusu noteica ar ^{13}C urīnvielas izelpas testu, izmantojot 75 mg urīnvielas substrāta. Mērījumus veica ar ^{13}C analizatoru FANhp (Fischer ANalysen Instrumente GmbH, Vācija). ^{13}C urīnvielas izelpas testa rezultāti, kuru delta virs bāzes līnijas (DOB) rezultāts bija > 4 , tika uzskatīti par pozitīviem, $< 2,5$ – par negatīviem, bet $2,5$ – 4 – par pelēko zonu. Tika iekļauti tikai *H. pylori* pozitīvi pacienti. Lai novērtētu eradikācijas terapijas efektivitāti, 6 mēnešus (+/- 2 nedēļas) pēc terapijas pabeigšanas tika veikts kontroles ^{13}C urīnvielas izelpas tests.

Ārstēšanas līdzekļi

Pētījums 1. *H. pylori* eradikācijas terapijai izraudzītie dalībnieki tika randomizēti vai nu standarta trīskāršajai terapijai ar klaritromicīnu (turpmāk “AMX/CLARI”), vai arī augstas devas amoksicilīna/bismuta terapijai (turpmāk “AMX/BI”). AMX/CLARI grupa saņēma klaritromicīnu 500 mg, amoksicilīnu 1000 mg un esomeprazolu 40 mg, visus divreiz dienā, savukārt AMX/BI grupa saņēma bismuta subcitrātu 240 mg BID, amoksicilīnu 1000 mg trīsreiz dienā un esomeprazolu 40 mg divreiz dienā. Kontrolgrupa saņēma parasto aprūpi un netika pārbaudīta uz *H. pylori*. Abas terapijas shēmas bija 14 dienu garumā, ar ieteikumu zāles lietot 30 minūtes pirms ēšanas.

Pētījums 2. 1. grupa (10 dienu standarta trīskāršā terapija bez probiotikām, turpmāk tekstā – ST10) un 2. grupa (14 dienu standarta trīskāršā terapija bez probiotikām, turpmāk tekstā – ST14) saņēma klaritromicīnu 500 mg, amoksicilīnu 1000 mg un esomeprazolu 40 mg, visu divreiz dienā attiecīgi 10 vai 14 dienas 30 minūtes pirms ēšanas. 3. grupa (10 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulardii*, turpmāk tekstā – ST10SB) un 4. grupa (14 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulardii*, turpmāk tekstā – ST14SB) saņēma klaritromicīnu 500 mg, amoksicilīnu 1000 mg un esomeprazolu 40 mg, visu divreiz dienā, 30 minūtes pirms ēšanas. Turklāt 3. un 4. grupa saņēma Enterol™ 250 mg un 2 kapsulas (*Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, kopā 500 mg) divas reizes dienā divas stundas pēc antibiotiku lietošanas. Probiotiku neizmantojušās apakšgrupas probiotiku aizvietošanai nesaņēma placebo.

Efektivitāte, blakusparādības un ārstēšanas rekomendāciju ievērošana

Efektivitāte tika novērtēta, pamatojoties uz “*nodomu ārstēt*” (*intention-to-treat*) visus, kas saņēma zāles, un “*pēc protokola*” (*per-protocol*). Veicot “*pēc protokola*” analīzi, par terapijas pabeigtību uzskatīja, ja $\geq 90\%$ zāļu tika lietotas atbilstoši ieteikumiem.

Lai novērtētu blakusparādības un ārstēšanas shēmas ievērošanu, ar pētāmajām personām sazinājās telefoniski 21 līdz 28 dienas pēc eradikācijas zāļu lietošanas sākuma. Nevēlamo notikumu reģistrācija tika veikta, pamatojoties uz Kopējiem nevēlamo notikumu terminoloģijas kritērijiem (CTCAE) [67]. Dalībnieki tika aptaujāti par šādām blakusparādībām: sāpes vēderā vai diskomforts, vēdera pūšanās, flatulence, caureja, vemšana, slikta dūša, rūgta garša mutē, ādas izsitumi/nieze, izdalījumi no maksts, izkārnījumu krāsas izmaiņas, vispārējs diskomforts/nespēks, miega paradumu izmaiņas un citi simptomi. Pēc tam, kad 3 reizes pēc kārtas neizdevās sazvānīt personas, tās tika izslēgtas no nevēlamo notikumu analīzes.

Turpmāka zarnu mikrobiotas novērtēšana

Pētījumā 1 dalībnieki tika uzaicināti uz kontroles novērtēšanu sešus mēnešus pēc tam, kad eradikācijas grupa saņēma eradikācijas medikamentus, ar pieļaujamo laika novirzi līdz vienam mēnesim. Katram pētījuma dalībniekam tika paņemti fēču paraugi zarnu metagenoma testēšanai gan sākotnējā, gan kontroles izmeklējuma laikā.

Paraugu apstrāde un mikrobiotas analīze

Paraugu savākšanai, transportēšanai un uzglabāšanai tika izmantotas paraugu ņemšanas mēģenes, kas paredzētas fēču imunoķīmiskajam okultas asins

testam OC-Sensor no Eiken Chemical Co., Ltd (Tokija, Japāna); mūsu iepriekšējie pētījumi ir pierādījuši šīs metodes piemērotību metagenoma testēšanai [68]. Pēc kvantitatīvā imunoķīmiskā fēču slēpto asiņu testa veikšanas visas atgrieztās parauga mēģenes nekavējoties tika sasaldētas -80°C temperatūrā, uzglabātas un transportētas sasaldētas līdz turpmākai apstrādei mikrobioma analīzei. Paraugu apstrāde notika 60 dienu laikā pēc paraugu ņemšanas.

Pirms ekstrakcijas kopējais bufera saturs, kas satur fēces ($\sim 1,5$ ml), tika ekstrahēts no paraugu pudelēm ar sterilu vienreizlietojamu šļirci un koncentrēts liofilizācijas procesā. Pēc tam no liofilizēta parauga tika ekstrahēta mikrobu DNS, izmantojot FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, ASV) un FastPrep 24 5G instrumentu. Papildus tika ekstrahēta DNS no negatīvās kontroles un mikrobu kopienas un DNS standartiem (ZymoBIOMICS, ASV). Sekvenēšanu veica MGI-Tech Latvia laboratorijās, kur ekstrahēto DNS fragmentēja aptuveni 400 bp fragmentos ar Covaris S220 un sagatavoja sekvenēšanas bibliotēku, izmantojot MGIEasy PCR-Free DNA kit (MGI-tech, Ķīna), ievērojot ražotāja standarta protokolu. Bibliotēkas kvalitāte tika pārbaudīta ar Agilent Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies, ASV). Metagenomiskā sekvenēšana tika veikta ar DNBSEQ-G400 platformu (MGI, Ķīna), izmantojot 150 pāru galu nolasiņumus.

Metagenomikas neapstrādāto sekvenēšanas datu primārā apstrāde tika veikta Rīgas Tehniskās universitātes augstas veiktspējas skaitļošanas klasteros, izmantojot pašu adaptētu [69] vispārējās metagenomikas analīzes darba plūsmu – “StaG-mwc” [70]. Adaptera noņemšana un bāzes kvalitātes apgriešana tika veikta ar fastp [71]. Galvenielasiņumi tika noņemti ar Kraken2 (2.1.1. versija) [72], izmantojot GRCh38 cilvēka references genomu. Taksonomiskais iedalījums tika veikts, izmantojot Kraken2, salīdzinot ar datubāzi, kas izveidota no visiem pieejamajiem arheju, sēņu, baktēriju un viensūņu pilniem genomiem (RefSeq izdevums 180 2020-12-03). Lai uzlabotu taksonomisko daudzumu, tie tika atkārtoti novērtēti ar Bracken (2.6. versija) [73]. ARG sadalījumu un daudzumu novērtēja ar AmrPlusPlus (2.0. versija), kartējot neapstrādātos filtrētos nolasiņumus ar MEGARes (2.0. versija) atsaucēs datu bāzi. [74].

Datu analīze

Analīze tika veikta, izmantojot R programmatūras vidi (4.0.5. versija), tādās funkcijas un paketes kā phyloseq, microbiome, vegan un visualized, izmantojot ggplot. Iegūtie taksoni tika nejauši atlasīti ar phyloseq ģints līmenī (`rngseed = 1221983`), lai normalizētu nolasiņas dziļumu. Ģēnu bagātība (Richness, Chao1), izlīdzinātība (Shannon, Inv-Simpson) un beta daudzveidība (Bray-curtis) tika aprēķināta no Kraken2 neapstrādātiem skaitīšanas datiem, izmantojot phyloseq pakotni. 15 visbiežāk sastopamo ģinšu biežākās sastopamības tika vidēji aprēķinātas visiem paraugiem vienā grupā un attēlotas ar mikrobioma paketes palīdzību, un, izmantojot *phyloseq* piekļuves pamatfunkcijas,

tika izveidota 150 visbiežāk sastopamo ģinšu siltuma karte. Lai novērtētu alfa daudzveidības mērījumu atšķirību statistisko nozīmīgumu starp grupām, tika izmantots Vilksoksona rangū summas tests, bet beta daudzveidības rezultātu nulles hipotēžu pārbaudei tika izmantota permutācijas daudzfaktoru ANOVA (PERMANOVA).

Lai ņemtu vērā novērotās ARG nolasīšanas dziļuma un gēnu garuma atšķirības, tika izmantoti īpaši izstrādāti *python* skripti, lai normalizētu rezultātus [69]. Novērotais individuālo ARG skaits tika izteikts kā atrasto gēnu skaits uz miljonu nolasījumu, savukārt atsevišķu gēnu gadījumā katram gēnam un paraugam tika aprēķināti nolasījumi uz kilobāzi nolasījumu uz miljonu (RPKM), kas tālāk tika apkopoti ARG grupās, klasēs vai mehānismos.

$$RPKM = \frac{\text{Lasījumu skaits, kas kartēts ar atsauci} \times 10^9}{\text{Nolasījumu skaits paraugā} \times \text{Atsauces garums}}$$

Pēc iegūto secības nolasījumu salīdzināšanas ar MEGARes datubāzi visu pētījuma dalībnieku novēroto ARG nolasījumu skaits tika apkopots attiecīgajās grupās un marķēts pēc visbiežāk sastopamajām ARG klasēm. Manna-Vitnija tests tika izmantots, lai novērtētu pretestības mehānismu atšķirības starp diviem laika posmiem katrā grupā. Lai salīdzinātu efektivitāti un atbilstību, tika izmantots Pīrsona chi-kvadrāts tests un Manna-Vitnija U tests neatkarīgām izlasēm. Nevēlamie notikumi tika novērtēti, izmantojot lineāro regresiju un Z rādītāju. P vērtība $< 0,05$ tika uzskatīta par nozīmīgu.

Pētījumā 2., salīdzinot četras pacientu grupas, tika iegūts liels mainīgo lielumu skaits. Lai novērstu I tipa kļūdu, mainīgajiem lielumiem tika piemērota Bonferroni korekcija. Šī korekcija ietvēra vēlāmā alfa līmeņa dalīšanu ar veikto salīdzinājumu skaitu. Līdz ar to tika paaugstināts nozīmīguma sliekšnis atsevišķiem testiem, nosakot stingrāku statistiskā nozīmīguma noteikšanas kritēriju.

Ētika

GISTAR pētījumu apstiprināja Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Ētikas komiteja (Galvenais apstiprinājums Nr. 14-A/13, apstiprināts 03.10.2013. un papildinājums, kas attiecas uz probiotiku apakšpētījumu Nr. 8-A/17, apstiprināts 20.07.2017.), Latvijas Centrālā medicīnas ētikas komiteja (Nr. 01.-29.1/11, apstiprināts 09.12.2013.) un IARC/WHO Ētikas komiteja (protokola ID: 12-36). Visi pētāmie pirms uzņemšanas parakstīja informētu piekrišanas veidlapu.

REZULTĀTI

Kopumā mūsu pētījumos tika iekļauti 983 pacienti ar pozitīvu *H. pylori* elp-testu. Pēc tam 579 subjekti, kuriem *H. pylori* tests bija pozitīvs, tika iekļauti un ārstēti Pētījumā 1. No tiem 299 dalībniekiem (52%) tika nozīmēts AMX/CLARI, bet 280 (48%) tika ievietoti AMX/BI. Pēc dzimumu sadalījuma piedalījās 40,2% vīriešu (233 no 579). Dalībnieku vidējais vecums bija 52 gadi, diapazonā no 40 līdz 64 gadiem un mediānas vecums 52 gadi. Pētījuma dalībnieku demogrāfiskais iedalījums ir sniegts 1. tabulā. Izņemot smēķēšanas ieradumus, citas statistiski nozīmīgas parametru atšķirības starp abām grupām nebija novērotas.

1. tabula. AMX/CLARI un AMX/BI grupu raksturojums

	AMX/CLARI	AMX/BI	<i>p</i> -vērtība
Medikamenti tika izsniegti	299	280	
Vīrieši	112/299 (37,5%)	121/280 (43,2%)	0,16
Mediānas vecums, gadi	52	52	
Mediānas ŪMI kg/m ²	28,7	28,3	
Smēķēja katru dienu vismaz 1 gadu	94/299 (31,4%)	122/280 (43,6%)	0,003
Lietoja alkoholu vismaz reizi nedēļā vismaz 6 mēnešus	74/299 (24,7%)	80/280 (28,6%)	0,29
Veģetārieši	1/299 (0,3%)	2/280 (0,7%)	0,52
Pieejamie intervijai	248/299 (82,9%)	235/280 (83,9%)	0,75
Neuzsāka eradikācijas shēmu	17/299 (5,7%)	13/280 (4,6%)	0,57
Izpildīja eradikācijas režīmu (≥ 90%)	224/299 (75,0%)	214/280 (76,4%)	0,67
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (<i>intention-to-treat</i> ; ≥ 90% medikamentu)	164/299 (54,8%)	152/280 (54,3%)	0,89
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (<i>per-protocol</i> ; ≥ 90% medikamentu)	164/224 (73,2%)	152/214 (71,0%)	0,61
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (< 90% medikamentu)	8/299 (2,7%)	4/280 (1,4%)	0,29
Neuzsāka eradikācijas shēmu, bet atnāca uz kontroles elptestu	3/299 (1,0%)	2/280 (0,7%)	0,70

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija,

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

Kopumā, 30 dalībnieki (17 no AMX/CLARI un 13 no AMX/BI) neuzsāka *H. pylori* izskaušanas ārstēšanu dažādu iemeslu dēļ. Šie iemesli bija slimības pirms terapijas uzsākšanas, nevēlēšanās lietot zāles vai bailes no zāļu lietošanas; citos gadījumos skaidrs pamatojums netika sniegts.

No visiem reģistrētajiem pētījuma dalībniekiem – 483 (83,4%, 95 %TI 80,1–86,4%) atbildēja uz nevēlamo blakusparādību anketas jautājumiem 21–28 dienu laikā pēc ārstēšanas uzsākšanas. No šiem respondentiem 328 (56,6% no kopējā respondentu skaita) apmeklēja kontroles elptestu, lai novērtētu *H. pylori* eradikācijas terapijas efektivitāti. Turklāt 316 dalībnieki (54,7% no kopējā skaita), kuri lietoja vismaz 90% no nozīmētās terapijas, tika iekļauti *per-protocol* ārstēšanas efektivitātes novērtējumā.

Pētījumā 2 mēs koncentrējamies uz probiotikas *S. boulardii* ietekmes pārbaudi. Kopumā 404 indivīdi, kuriem *H. pylori* tests bija pozitīvs, saņēma izskaušanas medikamentus. No šiem dalībniekiem 66,8% (270 no 404) bija sievietes. Šīs grupas vidējais vecums bija 53,6 gadi, mediāna 55,0 gadi un vecuma diapazons no 40 līdz 64 gadiem. Pacientu sadalījums dažādās ārstēšanas grupās bija šāds: 77 pacienti (19,1%) ST10 grupā, 96 pacienti (23,8%) ST14 grupā, 113 pacienti (28,0%) ST10SB grupā un 118 pacienti (29,2%) ST14SB grupā. Katras grupas demogrāfiskie un dzīvesveida parametri ir parādīti 2. tabulā. Starp grupām nebija statistiski nozīmīgu atšķirību.

2. tabula. ST10, ST14, ST10SB, ST14SB grupu apraksts

	ST10	ST14	ST10SB	ST14SB
Medikamenti izsniegti, <i>n</i>	77	96	113	118
Vīrieši, <i>n</i> (%)	28 (36,4%)	25 (27,1%)	38 (33,6%)	42 (35,6%)
Vidējais (mediānas) vecums, gadi	53,8 (55)	53,1 (54)	53,7 (55)	53,9 (55)
Mediānas ĶMI kg/m ²	28,5	27,8	27,7	27,3
Smēķēja katru dienu vismaz 1 gadu	29/77 (37,7%)	33/96 (34,4%)	50/113 (44,2%)	52/118 (44,1%)
Lietoja alkoholu vismaz reizi nedēļā vismaz 6 mēnešus	31/77 (40,3%)	34/96 (35,4%)	35/113 (31,0%)	40/118 (33,9%)
Veģetārieši	1/77 (1,3%)	–	–	1/118 (0,9%)
Pieejami intervijai	72/77 (93,5%)	94/96 (98,0%)	111/113 (98,2%)	114/118 (96,6%)
Neuzsāka eradikācijas shēmu	5/72 (7,0%)	2/94 (2,0%)	2/111 (1,8%)	4/114 (3,5%)
Izpildīja eradikācijas režimu (≥ 90%)	69/72 (95,8%)	90/94 (95,7%)	110/111 (99,1%)	107/114 (93,9%)

	ST10	ST14	ST10SB	ST14SB
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (<i>intention-to-treat</i> ; ≥ 90% medikamentu)	50/77 (64,9%)	69/96 (71,9%)	87/111 (78,4%)	78/114 (68,4%)
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (<i>per-protocol</i> ; ≥ 90% medikamentu)	47/69 (68,1%)	66/69 (95,7%)	87/110 (79,1%)	73/107 (68,2%)
Urīnvielas elptests eradikācijas apstiprināšanai (< 90% medikamentu)	3/72 (4,2%)	3/94 (3,2%)	–	5/114 (4,4%)

ST10 – 10 dienu standarta trīskāršā terapija

ST14 – 14 dienu standarta trīskāršā terapija

ST10SB – 10 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. bouldarii*

ST14SB – 14 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. bouldarii*

No visiem dalībniekiem, kuriem Pētījumā 2 tika nozīmēta ārstēšana, 97,5% (391 no 404, 95% TI 95,5–98,8%) pabeidza pēcterapijas aptauju un tika intervēti par blakusparādībām un to, kā viņi ievēroja ārstēšanas shēmu.

Kopumā 13 subjekti (no kuriem pieci no ST10 grupas, divi no ST14, divi no ST10SB un četri no ST14SB), kuri tika intervēti, neuzsāka nozīmēto izskaušanas ārstēšanu. Tam tika minēti dažādi iemesli, piemēram, vilcināšanās vai raizes par zāļu lietošanu, vai arī dažos gadījumos konkrēts iemesls netika norādīts.

Pacientu līdzestība

Pētījuma 1 dalībnieku vidū tika novērots augsts līdzestības līmenis: 90,3% (224 no 248, 95% TI 85,9–93,7%) AMX/CLARI grupā un 91,1% (214 no 235, 95% TI 86,7–94,4%) AMX/BI grupā pilnībā ievērojot zāļu lietošanas shēmu. Turklāt 2,0% (5 no 248) AMX/CLARI grupā un 1,3% (3 no 235) AMX/BI grupā lietoja vairāk nekā 90% no tiem paredzētajām zālēm.

Pētījuma 2 dalībnieku kopējais ārstēšanas līdzestības līmenis bija ļoti augsts – 96,2% (376 no 391; 95% TI 93,9–97,8%). Neprobiotisko un probiotisko shēmu grupās tas būtiski neatšķīrās, sasniedzot attiecīgi 95,8% (159 no 166) un 96,4% (217 no 225). Visaugstāko līdzestības rādītāju uzrādīja ST10SB grupa (99,1%), savukārt abām 14 dienu shēmām (ST14 un ST14SB) tas bija nedaudz zemāks, bet joprojām savstarpēji līdzīgs.

Nevēlamo notikumu biežums

Pētījumā 1 par nevēlamiem notikumiem standarta izskaušanas terapijas laikā ziņoja 57,0% AMX/CLARI dalībnieku (141 no 248, 95% TI 50,4–63,1%) salīdzinājumā ar 40,0% AMX/BI grupā (94 no 235, 95% TI 33,7–46,6%);

$p < 0.01$). Šo notikumu diapazons un specifika dažādās grupās bija atšķirīga (kā norādīts 3. tabulā).

3. tabula. Eradikācijas terapijas blakusparādību salīdzinājums Pētījumā 1.

	AMX/CLARI % (n/kopā)	AMX/BI % (n/kopā)	p-vērtība
Caureja	21 (58/248)	13 (23/235)	< 0,01
Rūgtā garša mutē	36 (97/248)	5 (9/235)	< 0,01
Izkārnījumu krāsas maiņa	3 (7/248)	31 (55/235)	< 0,01
Vēdera pūšanās	5 (13/248)	3 (7/235)	0,21
Slikta dūša	9 (25/248)	6 (14/235)	0,10
Sāpes vēderā	5 (13/248)	7 (17/235)	0,37
Nespēks	8 (19/248)	3 (7/235)	0,02
Vemšana	3 (7/248)	0,4 (1/235)	0,04
Ādas izsitumi	2,2 (6/248)	3,4 (6/235)	0,92

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija,

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

Visbiežāk novērotās AMX/CLARI blakusparādības bija rūgtā garša mutē, slikta dūša, nogurums, sāpes vēderā un vēdera pūšanās, savukārt AMX/BI dalībnieki ziņoja par izkārnījumu krāsas izmaiņām, caureju, sāpēm vēderā un sliktu dūšu. Vidējais blakusparādību skaits vienam subjektam bija 2, kas ir konsekventi abās ārstēšanas grupās. AMX/CLARI ziņoja arī par retāk sastopamām blakusparādībām, piemēram, mēles kairinājumu un sausu muti, savukārt AMX/BI novēroja, cita starpā, tādas problēmas kā aizcietējums, zili plankumi uz apakšstilbiem un galvassāpes.

Pētījumā 2 datus par nevēlamu notikumu biežumu sniedza 391 dalībnieks, 31,7% ziņoja par vismaz vienu nevēlamu notikumu. Vidējais nevēlamo notikumu skaits uz cilvēku bija nedaudz lielāks 14 dienu shēmās (0,51), salīdzinot ar 10 dienu shēmām (0,39). Dalībniekiem, kuri izmantoja 14 dienu shēmu, bija tendence ziņot par vairākiem notikumiem, vidēji 1,42 notikumiem, salīdzinot ar 1,17 – 10 dienu shēmā.

Salīdzinot grupas ar un bez probiotikas papildinājuma, tiem, kuri nesaņēma probiotikas, bija nedaudz augstāks vidējais nevēlamo notikumu skaits (0,53 pret 0,39), taču šī atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Netika konstatētas būtiskas vidējā notikumu skaita atšķirības indivīdiem, kuri ziņoja par vismaz vienu nevēlamu notikumu neatkarīgi no probiotiku lietošanas.

Pētījumā arī konstatēts, ka par caureju biežāk ziņots 14 dienu ārstēšanas shēmās, retāk pacientiem, kuri saņēma probiotikas kopā ar 14 dienu

ārstēšanu (4. tabula). Tomēr pēc Bonferroni korekcijas piemērošanas, lai salīdzinātu blakusparādību biežumu starp grupām, tika konstatēts, ka koriģētā nepieciešamā *p* vērtība ir mazāka par 0,0015.

4. tabula. Blakusparādību salīdzinājums eradikācijas apakšgrupās Pētījumā 2.

	ST10 %(n)	ST10SB %(n)	p-vērtība	ST14 %(n)	ST14SB %(n)	p-vērtība	10 dienas vs. 14 dienas (<i>p</i> -vērtība)
Pieejami intervijai	72	111		94	114		
Paziņoto nevēlamo notikumu vidējais skaits	0,36	0,40	0,71	0,65	0,38	0,03	0,14
Caureja	8,3% (6)	9,9% (11)	0,72	21,3% (20)	10,5% (12)	0,03	0,05
Slikta dūša	4,2% (3)	3,6% (4)	0,85	9,6% (9)	7,0% (8)	0,50	0,07
Vemšana	0	0	–	1,1% (1)	0,9% (1)	0,89	0,18
Rūgta garša mutē	8,3% (6)	13,5% (15)	0,26	16,0% (15)	11,4% (13)	0,34	0,56
Grēmas	0	1,8% (2)	0,25	0	0	–	0,13
Sāpes vēderā	6,9% (5)	2,7% (3)	0,17	2,1% (2)	6,1% (7)	0,16	0,98
Vēdera pūšanās	1,39% (1)	2,7% (3)	0,56	2,1% (2)	0,9% (1)	0,45	0,58
Ādas izsitumi	1,39% (1)	0,9% (1)	0,76	1,1% (1)	0,9% (1)	0,89	0,99
Nieze	1,39% (1)	0	0,21	0	2,6% (3)	0,11	0,13

ST10 – 10 dienu standarta trīskāršā terapija

ST14 – 14 dienu standarta trīskāršā terapija

ST10SB – 10 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulandii*

ST14SB – 14 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulandii*

Izkaušanas shēmu efektivitāte

Pētījumā 1. kontroles urīnvielas elptests sešus mēnešus pēc ārstēšanas bija veikts 332 personām, no kurām 174 bija AMX/CLARI un 158 – AMX/BI. *Per-protocol* analīze atklāja ievērojami augstāku efektivitāti AMX/CLARI gadījumā – 88,4% (145 no 164, 95% TI 82,5–92,3%) salīdzinājumā ar 77,0%

AMX/BI gadījumā (117 no 152, 95% TI 69,5–83,4%; $p < 0,001$). *Intention-to-treat* analīze parādīja augstākas efektivitātes tendenci AMX/CLARI gruoā salīdzinājumā ar AMX/BI, bet bez statistiski nozīmīgas atšķirības (AMX/CLARI: 48.5%, AMX/BI: 41.8%; $p = 0,105$).

Pētījumā 2 – 70,3% dalībnieku (284 no 404) veica kontroles elptestu. No tiem, 67,6% (273 dalībnieki) ievēroja medikamentu lietošanas režīmu un tika iekļauti *per-protocol* analīzē. Divi dalībnieki tika izslēgti nepārliciecināmu elptesta rezultātu dēļ. Tomēr 29,7% dalībnieku (120 respondenti) dažādu iemeslu dēļ kontroles elptestu neveica. Veiksmīga *H. pylori* eradikācija tika sasniegta 88,2% *per-protocol* grupā un 61,4% *Intention-to-treat* grupā. Veicot analīzi *Intention-to-treat* grupā, 10 dienu ārstēšanas režīms ar *S. boulardii* piedevu (ST10SB) uzrādīja augstāku eradikācijas efektu (70,8%) salīdzinājumā ar tāda paša ilguma ārstēšanu bez probiotikas (54,6% ST10 grupā). Turpmākie apakšgrupu salīdzinājumi sīkāk izklāstīti 5. tabulā.

5. tabula. Eradikācijas efektivitāte *Intention-to-treat* analīzē

		ST10	ST14
	Veiksmīga eradikācija % (95%TI)	42/77 54,6% (42,8–66,0)	59/96 61,5% (51,0–71,2)
ST10SB	80/113 70,8% (61,5–79,0)	$p = 0,02$	$p = 0,15$
ST14SB	66/118 55,9% (46,5–65,1)	$p = 0,85$	$p = 0,41$

ST10 – 10 dienu standarta trīskāršā terapija

ST14 – 14 dienu standarta trīskāršā terapija

ST10SB – 10 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulardii*

ST14SB – 14 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. boulardii*

Pēc Bonferroni korekcijas piemērošanas efektivitātes testēšanai *Intention-to-treat* grupā tika konstatēts, ka koriģētā nepieciešamā p vērtība (p -koriģēta) ir $< 0,01$, kas norāda uz to, ka atšķirība starp testiem nav nozīmīga.

Per-protocol analīzē 90,6% eradikācijas rādītājs (144 no 159, 95% TI 84,9–94,6%) tika novērots apakšgrupā, kas saņēma *S. boulardii*, salīdzinot ar 85,0% (96 no 113, 95%TI 77,0–91,0%) dalībniekiem, kuri nesaņēma probiotikas ($p = 0,183$). Šī tendence bija konsekventa visās apakšgrupās *per-protocol* analīzē, kā norādīts 6. tabulā. Līdzīgi kā iepriekš, p -koriģētais bija $< 0,01$.

6. tabula. ST10, ST14, ST10SB, ST14SB eradikācijas efektivitāte *per-protocol* analizē

		ST10	ST14
	Veiksmīga eradikācija % (95%TI)	39/47 83,0% (69,2–92,4)	57/66 86,4% (75,7–93,6)
ST10SB	80/87 92,0% (84,1–96,7)	$p = 0,15$	$p = 0,30$
ST14SB	64/72 88,9% (79,3–95,1)	$p = 0,42$	$p = 0,80$

ST10 – 10 dienu standarta trīskāršā terapija

ST14 – 14 dienu standarta trīskāršā terapija

ST10SB – 10 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. bouldarii*

ST14SB – 14 dienu standarta trīskāršā terapija ar *S. bouldarii*

Zarnu mikrobiotas kontroles novērtējums (Pētījums 1.)

Pašlaik nākamais pētījuma posms tika veikts tikai 1. pētījumā. Fēču paraugi bija pieejami no 158 dalībniekiem, no kuriem 27 saņēma AMX/BI un 31 saņēma AMX/CLARI. No kontroles grupas tika iekļauti vēl 50 dalībnieki. Kontrolgrupa pētījuma ietvaros nesaņēma nekādu intervenci. Vidējais laika intervāls pirms otrās paraugu ņemšanas bija 215 dienas ar standartnovirzi 30,0 dienas un mediānu – 205 dienas, diapazons 172–255 dienas.

Dalībnieku mediānas vecums bija 51 gadi. No tiem 41,7% ($n = 45$) bija vīrieši; vidējais ĶMI bija 28,7 kg/m². Dalībnieku raksturojums AMX/CLARI, AMX/BI un kontroles grupās neatšķirās (7. tabula).

7. tabula. Analizēto kohortu raksturojums

	AMX/CLARI, $n = 31$	AMX/BI, $n = 27$	Kontrole, $n = 50$	p -vērtība
Vīrieši/sievietes, n (%)	12 (38,7%)/ 19 (61,3%)	12 (44,4%)/ 15 (55,6%)	21 (42,0%)/ 29 (58,0%)	0,66
Mediānas vecums, gadi	52	48	51	
Mediānas ĶMI kg/m ²	30,1	29,6	28,1	0,21
Smēķēja katru dienu vismaz vienu gadu	9 (29,0%)	10 (37,0%)	15 (30,0%)	0,52
Veģetārieši	1 (3,2%)	1 (3,7%)	2 (4,0%)	0,92

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

Vispārējs mikrobu kopienas pārskats Pētījumā 1

Pēc kvalitātes filtrēšanas, apgrīšanas (vidējais kvalitātes rādītājs 30 un vairāk par 50 bp nolasījuma garuma) un saimniekorganisma secības noņemšanas tika iegūti kopumā 10,3 miljardi augstas kvalitātes pāra gala nolasījumu. Pēc retināšanas respondentu zarnu mikrobiomā tika identificēti 2789 ģints līmeņa taksoni, kas satur gan baktērijas (90,4%), gan eikariotus (9,6%). Pamata mikrobioms sastāvēja no 317 ģintīm (ģints līmeņa taksoni, kas konstatēti vismaz 75% datu kopas). Paraugi saturēja vidēji 35,2 M ± 12,8 M nolasījumu ar diapazonu 19,63–201,35 M nolasījumu, savukārt negatīvajā kontrolē bija mazāk nekā 67 tūkstoši nolasījumu. Mikrobu imitācijas kopienas kontroles paraugos kopumā bija 91,1 M nolasījumu un tie atbilda paredzamajam DNS standarta izspēles sastāvam, savukārt mikrobu standarts atklāja iespējamu novirzi ekstrakcijas procedūrā pret gramnegatīvām baktērijām (8. tabula).

8. tabula. Pārskats par negatīvo kontroli un mākslīgās kopienas sastāvu DNS un mikrobu standartu kontekstā shotgun metagenoma analizē

Sagaidāmā mikrobu mākslīgās kopienas
DNS standarta sastāvs

Sugas	gDNS relatīvā abundance (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
<i>Escherichia coli</i>	12
<i>Salmonella enterica</i>	12
<i>Lactobacillus fermentum</i>	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	12
<i>Bacillus subtilis</i>	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	2

Iegūtais mikrobu mākslīgās kopienas
DNS standarta sastāvs (Kraken2 un
Bracken analizē)

Sugas	gDNS relatīvā abundance (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13,42
<i>Escherichia coli</i>	9,00
<i>Salmonella enterica</i>	13,79
<i>Lactobacillus fermentum</i>	11,56
<i>Enterococcus faecalis</i>	11,18
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,63
<i>Listeria monocytogenes</i>	11,59
<i>Bacillus subtilis</i>	9,78
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,56
<i>Cryptococcus neoformans</i>	2,12

ZymoBIOMICS Microbial Community DNA Standard (D6305)

Sagaidāmais mikrobu mākslīgās kopienas standarta sastāvs

Sugas	gDNS relatīvā abundance (%)
Pseudomonas aeruginosa	12
Escherichia coli	12
Salmonella enterica	12
Lactobacillus fermentum	12
Enterococcus faecalis	12
Staphylococcus aureus	12
Listeria monocytogenes	12
Bacillus subtilis	12
Saccharomyces cerevisiae	2
Cryptococcus neoformans	2

ZymoBIOMICS Microbial Community Standard (D6300)

Iegūtais mikrobu mākslīgās kopienas standarta sastāvs (Kraken2 un Bracken)

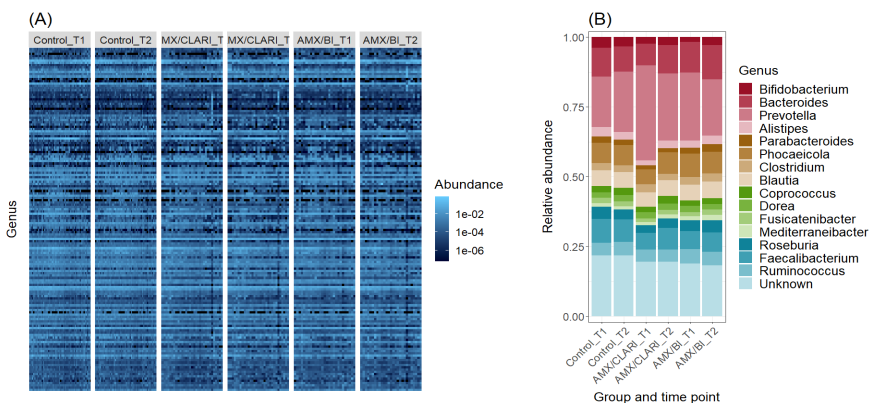
Sugas	gDNS relatīvā abundance (%)
Pseudomonas aeruginosa	21,28
Escherichia coli	15,62
Salmonella enterica	22,64
Lactobacillus fermentum	7,38
Enterococcus faecalis	7,69
Staphylococcus aureus	9,11
Listeria monocytogenes	6,19
Bacillus subtilis	6,03
Saccharomyces cerevisiae	0,27
Cryptococcus neoformans	0,17

10 visbiežāk sastopamās sugas negatīvajā kontrolē (Kraken2 un Bracken)

Sugas	gDNS relatīvā abundance (%)
Cutibacterium acnes	33,85
Escherichia coli	5,10
Salmonella enterica	4,97
Pseudomonas aeruginosa	3,04
Corynebacterium aurimucosum	2,82
Staphylococcus epidermidis	2,12
Staphylococcus aureus	1,98
Limosilactobacillus fermentum	1,82
Prevotella copri	1,74

Relatīvā abundance tiek parādīta, kā to noteicis ražotājs, un pēc klasifikācijas, izmantojot Kraken2 un Bracken.

Panelī A (3.a attēls) ir parādītas 15 visbiežāk sastopamās ģintis katrai ārstēšanas grupai un laika punktam, kas attēloti intensitātes kartē (*heatmap*). Paraugi ir attēloti uz x ass, bet uz y ass – ģintis līmeņa taksoni. 15 populārāko baktēriju ģinšu relatīvais daudzums, kas apkopots pēc ārstēšanas grupām un laika punkta, ir parādīts panelī B. Uz kraken2 balstītā taksonomiskā iedalījuma metode neatklāja ievērojamas nobīdes 150 visbiežāk sastopamo ģinšu vidū starp terapijas grupām (3a attēls, panelis A), arī 15 visbiežāk sastopamās ģintis būtiski neatšķīrās starp terapijas grupām (3a attēls, panelis B; 3b attēls).



3.a attēls. Visbiežāk sastopamās ģintis

Panelis A: 15 visbiežāk sastopamās ģintis katrai ārstēšanas grupai un laika punktam

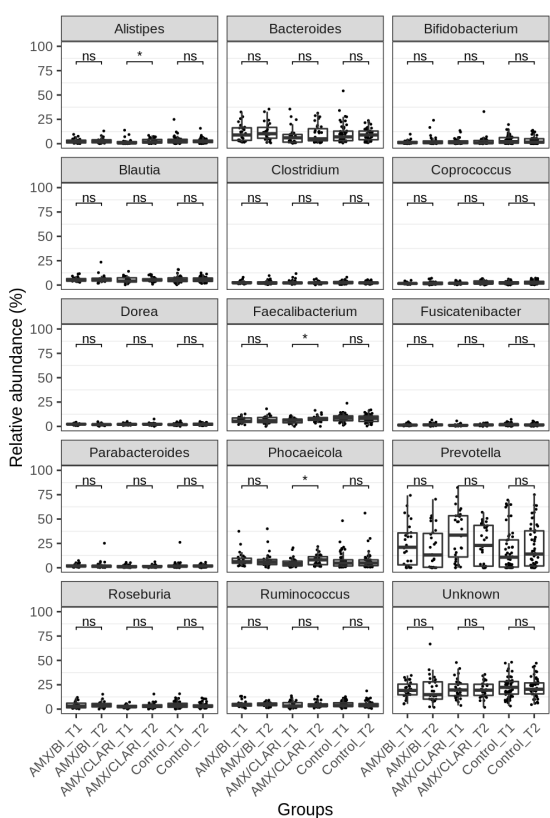
Panelis B: 15 lielāko baktēriju ģinšu relatīvais daudzums katrā ārstēšanas grupā un laika punktā

Control – kontroles grupa

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts



3. b attēls. Vilkoksona *Signed* rangu tests, lai novērtētu novēroto 15 lielāko taksonu relatīvā daudzuma (*relative abundance* %) atšķirības.

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts

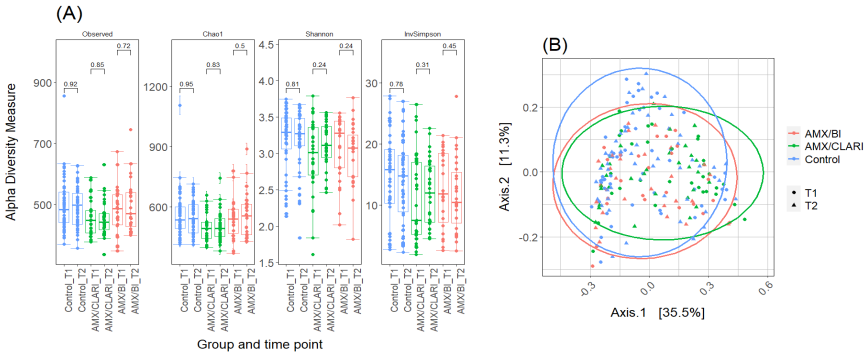
Control – kontroles grupa

ns – atšķirība nav statistiski ticāma ($p > 0,05$)

Alfa daudzveidības mērījumi katram ārstēšanas veidam un laika posmam ir atspoguļoti panelī A (4. attēls). Panelī B (4. attēls) parādīta baktēriju kopienu beta daudzveidība starp ārstēšanas grupām. Saskaņā ar secinājumiem citos pētījumos, kuros pētīta eradikācijas terapijas ietekme uz zarnu mikrobiotu, mūsu veiktajā mikrobu alfa daudzveidības analizē konstatēts, ka zarnu mikrobu daudzveidība ir līdzīga gan pirms, gan pēc eradikācijas. Starp sākotnējiem (T1) un kontroles (T2) paraugiem nevienā ārstēšanas grupā netika novērotas būtiskas alfa dažādības atšķirības. Analizējot beta dažādību starp ārstēšanas grupām, pamatojoties uz galveno koordinātu un PERMANOVA analīzi, arī atklājās, ka

gan atšķirīga ārstēšanas metode, gan dažādi analīzes laika punkti nebija galvenie faktori, kas noteica novēroto mikrobioma dažādību starp atsevišķiem paraugiem ($p > 0,05$) (4. attēls, panelis B).

Tika novērtēta atšķirība starp alfa dažādību trīs grupās otrajā paraugu ņemšanas punktā, kur vieglas atšķirības tika novērotas tikai starp bagātības vērtējumiem.



4. attēls. Alfa un beta daudzveidības

Panelis A: alfa daudzveidības mērījumi katram ārstēšanas veidam un laika posmam, izteikti kā sugu bagātība

Panelis B: baktēriju kopienu beta daudzveidība starp ārstēšanas grupām

Control – kontroles grupa

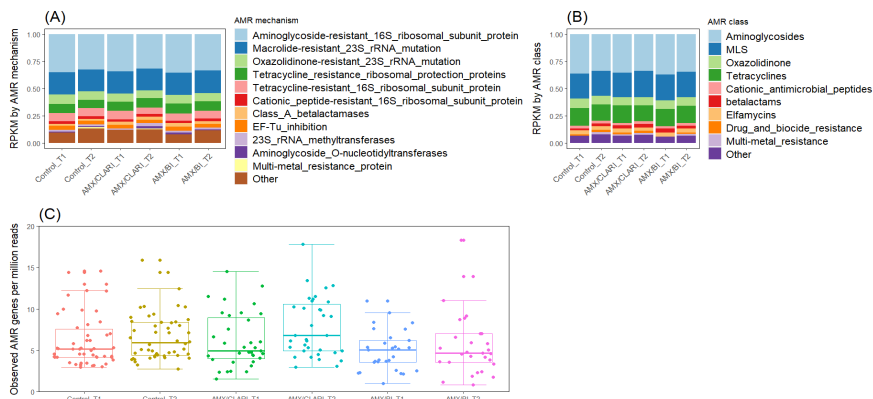
AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augsta devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts

ARG atšķirības starp abiem terapijas režīmiem un kontroles grupu

Kontroles grupā (T1 un T2 laika punktos) vidējais kvalitatīvi filtrēto nolasījumu procentuālais īpatsvars bija 0,98% un 1,03%, AMX/CLARI grupā – 1,20% un 1,00%, bet AMX/BI grupā – attiecīgi 0,90% un 0,98%. Novērtējot atšķirības starp novēroto ARG skaitu uz miljonu abos laika posmos (5. attēls, panelis C), statistiski nozīmīga atšķirība ($p = 0,05$) tika novērota tikai AMX/CLARI grupā (9. tabula).



5. attēls. Novēroto antimikrobiālās rezistences ģēnu (ARG) nolasiņumu relatīvais daudzums visiem pētījuma dalībniekiem, kas sadalīti attiecīgajās grupās un apzīmēti pēc visbiežāk sastopamajām ARG klasēm

Panelis A: visbiežāk sastopamie AMR (antimikrobiālās rezistences) mehānismi, kas izteikti RPKM un sadalīti ārstēšanas un paraugu ņemšanas grupās

Panelis B: visbiežāk sastopamās AMR ģēnu klases, kas izteiktas RPKM un apkopotas apstrādes un paraugu ņemšanas grupās

Panelis C: novēroto ARG skaits katrā paraugā, kas izteikts kā ģēnu skaits uz miljonu nolasiņumu un sadalīts ārstēšanas un paraugu ņemšanas grupās

Control – kontroles grupa

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts

9. tabula. Vilkoksona Signed ranga tests, lai novērtētu novēroto antimikrobiālās rezistences ģēnu skaita uz miljonu atšķirības abos laika posmos

	AMX/CLARI	AMX/BI	Kontrole
Ģēnu summu atšķirība paraugā T1 pret T2	$p = 0,19$	$p = 0,66$	$p = 0,61$
Ģēnu summu atšķirība uz vienu paraugu uz miljonu nolasiņumu T1 pret T2	$p = 0,05$	$p = 0,54$	$p = 0,20$

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts

Rezistences gēnu mehānismu raksturojums

Tālāk mēs salīdzinājām rezistences mehānismus un klases abos laika posmos. AMX/BI grupā mēs nenovērojām mehānismu atšķirības, tomēr AMX/CLARI grupā sešus mēnešus pēc eradikācijas terapijas bija vērojams plašs nozīmīgu izmaiņu spektrs (10. tabula). Pilns analizēto rezistences mehānismu un klašu uzskaitījums ir sniegts 11. un 12. tabulā.

10. tabula. Rezistences mehānismu salīdzinājums pirms un pēc terapijas

Mehānisms	AMX/BI			AMX/CLARI			Kontrole		
	T1	T2	<i>P</i>	T1	T2	<i>p</i>	T1	T2	<i>p</i>
23S rRNS metiltransferāzes	89,77	90,00	0,869	81,90	162,58	< 0,001*	75,06	80,47	0,704
Aminoglikozīdu O-nukleotid-iltransferāze	73,04	51,00	0,088	57,23	115,48	0,009*	56,06	59,36	0,938
Vara rezistences regulators	6,67	4,67	0,498	3,73	14,09	0,031*	10,23	15,23	0,307
Zāļu un biocīdu MATE efluksa sūkņi	6,37	10,11	0,313	4,18	9,64	0,001*	7,43	9,08	0,987
Pret fluorhinolonu rezistentā DNS topoizomerāze	12,10	14,90	0,953	8,53	16,88	0,048*	10,16	17,19	0,724
Lipīdu A modifikācija	7,00	4,43	0,933	2,88	8,69	0,035*	7,61	11,17	0,394
MLS rezistences MFS efluksa sūkņi	29,36	22,60	0,726	14,52	19,28	0,012*	20,11	30,22	0,125
Nātrija rezistences proteīns	6,80	3,40	0,588	2,67	13,17	0,046*	11,90	14,50	0,953
Streptotricīna acetiltransferāze	14,53	8,87	0,682	8,43	22,86	0,034*	11,71	14,42	0,829
Cinka rezistences proteīns	6,29	4,71	0,752	2,89	12,11	0,035*	12,09	17,36	0,575
Cinka rezistences regulators	11,40	6,40	0,893	3,89	15,33	0,038*	13,54	12,54	0,575

AMX/CLARI – standarta klaritromicīnu saturoša trīskāršā terapija

AMX/BI – augstas devas amoxicilīna/bismuta terapija

T1 – sākotnējais laika punkts, T2 – kontroles laika punkts

DISKUSIJA

H. pylori eradikāciju iesaka veikt veseliem populācijas locekļiem kuņģa vēža profilakses nolūkos. Terapijai ir jābūt pieņemamai un pēc iespējas nekaitīgai mērķa populācijā, ņemot vērā nevēlamo blakusparādību spektru. Diskusijā pievēršamies potenciālajām atšķirībām starp dažādiem eradikācijas režīmiem, vērtējot to efektivitāti, nevēlamo blakusparādību biežumu, kā arī spēju ierosināt un uzturēt rezistentas zarnu baktērijas sešus mēnešus pēc terapijas.

Šis, visticamāk, ir pirmais pētījums, kurā tika vērtēta augstas devas amoksicilīna/bismuta kombinācija kā primārā *H. pylori* izkaušanas shēma kaukāziešu kohortā. Lai gan terapeitiskie rezultāti nesasniedza klīniski rekomendēto līmeni, rezultāti ir daudzsoļi, ņemot vērā mazāku nevēlamo blakusparādību skaitu salīdzinājumā ar tradicionālo klaritromicīnu saturošo trīskāršo terapiju.

Āzijas populācijā augstas devas amoksicilīna terapija tiek izmantota kā pirmās līnijas ārstēšana ar ievērojamiem panākumiem, par ko liecina *H. pylori* eradikācijas rādītāji virs 90% [54, 75, 76]. Pamatojoties uz vairāku pētījumu rezultātiem par alternatīvām *H. pylori* eradikācijas metodēm, mēs sagaidījām, ka, izmantojot lielu amoksicilīna devu kombinācijā ar bismutu, tiks panākts augstāks eradikācijas līmenis [33, 76, 77]. Jāatzīmē, ka Jū [Yu] un citi ziņoja par ievērojamu izskaušanas līmeni – 93,3% – pēc augstas amoksicilīna devas kopā ar bismuta subcitrātu [76]. Novērotās atšķirības eradikācijas rādītājos var būt saistītas ar atšķirīgiem vielmaiņas procesiem, ko ietekmē izmantoto protonu sūkņa inhibitoru veids. [33, 78]. Savukārt Furuta et al. ir konstatējuši, ka izskaušanas terapijas efektivitāti var modulēt aknu citohroma genotipa variācijas [79].

Skābes nomācošā līdzekļa izvēle un devas pielāgošana var kalpot kā papildus stratēģija eradikācijas terapijas efektivitātes uzlabošanai. Vienā no mūsu pētījuma posmiem tika izmantota vienu antibiotiku saturoša shēma – ar augstu amoksicilīna devu. Zullo et al. demonstrēja 87,5% eradikācijas panākumus, lietojot desmit dienu dubultterapiju ar augstām amoksicilīna un esomeprazola devām [80]. Vēl augstāka efektivitāte, t.i., 91,3% tika sasniegta, pielietojot 14 dienu rabeprazolu saturošu duālo terapiju [75]. Lai efektivitāti vēl vairāk optimizētu, potenciālā pieeja varētu būt PSI dozēšanas biežuma palielināšana, piemēram, ievadišana ik pēc 6 stundām, kā ieteikts dažos Āzijas pētījumos [33]. Tomēr šī korekcija būtu vairāk piemērojama indivīdiem, kas klasificēti kā “ātri metabolizētāji” – grupa, kas retāk sastopama Rietumu populācijā.

Daudzsoļošs risinājums varētu būt PSI aizstāšana ar efektīvāku skābes maziņošu līdzekli, īpaši kāliju konkurējošu skābes blokatoru (P-CAB). Duālā terapija, kas ietver P-CAB un amoksicilīnu, ir demonstrējusi iepriecinošus rezultātus Japānā [81, 82], un līdzīgi izmēģinājumi notiek Eiropā. Turklāt ir sagaidāms, ka

šai kombinētajai terapijai būs mazāka ietekme uz rezistomas veidošanas [83], lai gan tam joprojām ir nepieciešams empīrisks apstiprinājums.

Standarta trīskāršās terapijas grupā tika ziņots par augstāku blakusparādību biežumu, īpaši lietojot klaritromicīnu, kas izraisīja tādu komplikāciju kā ar antibiotikām saistīta caureja [84, 85]. Pētījumi, kuros salīdzināja trīskāršo klaritromicīna un četrkāršo uz bismutu balstītu terapiju, uzrādīja līdzīgas blakusparādības, bet bismuta gadījumā to smaguma pakāpe bija mazāk izteikta [86], kas uz bismuta balstītu terapiju padara drošāku un labāk panesamu *H. pylori* ārstēšanā. Fords un citi [87] atzīmēja, ka bismuta terapijas visizplatītākā blakusparādība ir tumšas krāsas izkārnījumi bismuta sulfīda veidošanās dēļ, kas ir nekaitīgs un atgriezenisks efekts. Savukārt klaritromicīna terapijas laikā novērojamas nepatīkamas blakusparādības kā rūgta garša mutē, caureja un sāpes vēderā, kas potenciāli ietekmē ārstēšanas shēmas ievērošanu no pacienta puses.

Vairāki pētījumi liecina, ka dažādi probiotiķi var nomākt *H. pylori* gan ar imunoloģiskām, gan neimunoloģiskām metodēm, tostarp mainot saimnieka imūnsistēmas reakciju un ietekmējot baktēriju augšanu [37]. *S. boulardii* ir pierādījis spēju novērst *H. pylori* adhēziju pie kuņģa gļotādas un pretmikrobu aktivitāti, kā arī efektīvi samazina tādas blakusparādības kā sāpes vēderā un ar antibiotikām saistītu caureju [61, 62]. Tomēr pētījumi par *S. boulardii* nozīmi *H. pylori* izskaušanas veicināšanā uzrādīja neviennozīmīgus rezultātus. Lai arī Cindoruks un citi konstatēja augstāku izskaušanas līmeni pēc *S. boulardii* pievienošanas (71,0% pret 59,7%, $p > 0,05$) un tāda simptoma kā caureja samazināšanos, viņi neziņoja par būtisku vispārējo ietekmi uz izskaušanas rādītājiem [88]. Zojaji pētījumā tika konstatēta neliela izskaušanas rādītāju uzlabošanās, pievienojot *S. boulardii* standarta 14 dienu trīskāršajai terapijai (87,5% pret 81,2%, $p = 0,350$) [89]. Savukārt Gottelands [Gotteland] un citi novēroja, ka *S. boulardii* pats par sevi sasniedza 12% izskaušanas līmeni bērnu populācijā [90]. Mūsu pētījumā vienīgā ārstēšanas shēma, kas sasniedza vairāk nekā 90% izskaušanas līmeni, bija 10 dienu probiotiku saturoša terapija, savukārt citu shēmu efektivitāte bija 83–88,9%, kas ir līdzīgi vidējiem rādītājiem Latvijā [91]. Visticamāk, ka desmit dienu probiotikas saturošas terapijas panākumi bija augstāki, labākas ārstēšanas shēmas ievērošanas dēļ. Lai arī probiotiku lietošana uzrādīja nedaudz augstāku efektivitāti, atšķirības nebija statistiski nozīmīgas.

Šajā pētījumā tika novērots relatīvs blakusparādību biežuma samazinājums, pievienojot terapijai *S. boulardii* 14 dienu ārstēšanas grupā. Lai arī jau iepriekš tika uzskatīts, ka ārstēšana ar probiotikām mazina blakusparādības, pētījumā šī atšķirība nerasniedza statistisku nozīmīgumu. Probiotiku visievērojamākā ietekme tika novērota 14 dienu ārstēšanas kursā kā caurejas biežuma samazināšanās.

Probiotiku apakšgrupās, īpaši pielietojot desmit dienu ārstēšanas plānu, bija visaugstākais ārstēšanas shēmas ievērošanas līmenis, kas, iespējams, saistīts ar mazāku nevēlamo notikumu biežumu. Šis darbs ir ieguldījums pašreizējos pētījumos par *H. pylori* eradikācijas shēmu efektivitāti un ar to saistītām blaknēm.

Pētījumā ir īpaši uzsvēta mainīga ārstēšanas ilguma un probiotiku iekļaušanas ietekme. Atšķirībā no iepriekš veiktajiem pētījumiem, mūsu darbā tika izveidotas četras atsevišķas ārstēšanas grupas, pamatojoties uz noteiktiem kritērijiem, kas ļāva detalizēti analizēt katra mainīgā lieluma ietekmi uz ārstēšanas efektivitāti un blakusparādībām.

Šis promocijas darbs ir pirmais pētījums kaukāziešu populācijā, kurā tika vērtētas un raksturotas mikrobioma izmaiņas pēc augstas devas amoksicilīna terapijas kombinācijā ar bismutu.

Iepriekšējos pētījumos galvenokārt tika vērtēta tūlītēja (divu nedēļu laikā) vai īslaicīga (divu līdz trīs mēnešu) antibiotiku ietekme uz zarnu mikrobiotu, un lielākoties bija ietverts salīdzinoši neliels pētāmo subjektu skaits [92, 93]. Visos pētījumos tika pierādītas nozīmīgas īslaicīgas mikrobiotas izmaiņas, un kopumā tika apstiprināta *H. pylori* izskaušanas terapijas ilgtermiņa (sešus mēnešus un ilgāk) drošība. Jakobsona [Jakobsson] un citu pētījums, kurā piedalījās seši pacienti, uzrādīja, ka baktēriju daudzveidība samazinās uzreiz pēc izskaušanas terapijas ar klaritromicīnu un metronidazolu, bet vienu līdz četrus gadus vēlāk baktēriju daudzveidība bija līdzīga tai, kas tika konstatēta pirms ārstēšanas [94]. Novērotās ilgtermiņa variācijas galvenokārt bija saistītas ar ģints līmeni [35, 94].

Lai analizētu rezistences modeļus pēc *H. pylori* eradikācijas, iepriekš pasaulē nozīmīgos pētījumos tika izmantotas baktēriju kultūras [95, 96]. Vairumā pētījumu, galvenokārt no Āzijas valstīm, tika izmantota 16S rRNS sekvenčēšana, lai novērtētu alfa un beta daudzveidību pacientiem pēc *H. pylori* izskaušanas terapijas [35, 36, 97]. Vairākos jaunākajos pētījumos ir izmantota metagenoma sekvenčēšana, ļaujot izpētīt rezistoma sastāvu [19, 98]. Mūsu pētījumā metagenoma sekvenčēšana tika izmantota kā primārā testēšanas metode.

Nesen Taivānā tika veikts plašs randomizēts pētījums, kurā pētīja zarnu rezistoma parametrus pēc 2. līnijas eradikācijas režīmu pielietojuma – 1. grupā ar esomeprazolu, amoksicilīnu, metronidazolu un levofloksacīnu (14 dienu kurss) un 2. grupā ar esomeprazolu, bismutu, tetraciklīnu un metronidazolu (10 dienu kurss). Gan pirmajā, gan otrajā grupā pēc terapijas izmainītais rezistoms jau 8. nedēļā patstāvīgi normalizējās līdz pirmsterapijas līmenim [99]. Tomēr ir jāatzīmē, ka šajā pētījumā klaritromicīns netika pētīts.

Pētījumi liecina, ka klaritromicīns un metronidazols inducē rezistentu baktēriju kopumu zarnu mikrobiotā [94, 100, 101]. Saskaņā ar pašreizējām vadlīnijām *H. pylori* empīriskā eradikācijas terapijā jāizvairās no klaritromicīnu saturošas trīskāršas terapijas (izņemot reģionus ar zemu rezistenci (< 15%)), bet Eiropā tā joprojām ir visbiežāk izmantotā terapija. Tā kā klaritromicīns tiek plaši izmantots dažādu dzīvībai bīstamu slimību ārstēšanai un var izraisīt baktēriju rezistenci, būtu ieteicams apsvērt citus klaritromicīna nesaturošus eradikācijas režīmus.

Lai palielinātu efektivitāti un pārvarētu *H. pylori* rezistenci, tiek izmantota terapija uz bismuta bāzes standarta četrkāršās kombinācijās, vai pievienots bismuts citām terapijas shēmām, tostarp klaritromicīnu saturošiem standarta

režīmiem [34]. Turklāt ir norādes, ka uz bismuta balstīta terapija mazāk ietekmē zarnu rezistoma veidošanos, tāpēc mūsu pētījumā tika izmantota uz bismutu balstīta kombinācija. Iepriekš pētījumos ir pierādīts, ka bismutam nav ilgtermiņa ietekmes uz *E.coli* rezistences veidošanos [35, 36]. Pētījumā Eiropā, ko veica Prasta-Nilsena [*Prast-Nielsen*] un citi [102], piedalījās 38 pacienti, kurus novēroja sešus mēnešus pēc ārstēšanas. Šis pētījums demonstrēja tikai daļēju alfa daudzveidības atjaunošanos gan grupā, kas saņēma bismutu saturošu shēmu, gan ne-bismuta grupā. Tomēr Ljū [*Liou*] un citu [35] pētījums demonstrēja, ka alfa un beta daudzveidība pilnībā neatjaunojās pat pēc viena gada pacientiem, kuri tika ārstēti ar bismutu saturošām un bismutu nesaturošām četrkāršām terapijām. No otras puses, paaugstināta *E. coli* rezistence pret antibiotikām netika konstatēta nedz bismutu saturošu, nedz bismutu nesaturošu shēmu gadījumos.

Lielākā priekšrocība, lietojot amoksicilīna terapiju, ir niecīgā ietekme uz zarnu mikrobiomu. Plaša metaanalīze no Lielbritānijas analizēja 10 pētījumus par iekšķīgi lietotu amoksicilīna ietekmi uz zarnu mikrobiomu – rezultāti uzrādīja, ka ietekme ir bijusi minimāla un īslaicīga [103]. Neraugoties uz izmaiņām, kuras izraisīja īslaicīga beta-laktāmu terapija, gan zarnu mikrobiota, gan rezistomu sastāvs ātri atjaunojās līdz sākotnējam stāvoklim vienas nedēļas laikā pēc medikamentu lietošanas pārtraukšanas [104].

Mūsu pētījumā būtiskas mikrobu sastāva atšķirības pirms un sešus mēnešus pēc eradikācijas AMX/BI grupā netika novērotas; mikrobu sastāvs neatšķīrās no kontroles grupas.

Interesantākais mūsu pētījuma atklājums bija statistiski nozīmīgs ARG skaita pieaugums, kas saglabājās sešus mēnešus pēc standarta trīskāršas klaritromicīna terapijas; šis efekts netika novērots ne AMX/BI, ne kontroles grupā. AMX/CLARI apakšgrupā novērojām multiformas rezistences mehānisma līmeņa izmaiņas, kas raksturīgas makrolīdiem. Nopietnākās rezistences mehānismu transformācijas tika iegūtas ar 23S rRNS metiltransferāžu, zāļu un biocīdu MATE efluksa sūkņu, kā arī MLS rezistences MFS efluksa sūkņu mehānismiem, kas atbild par krustenisko rezistenci pret citiem antibakteriāliem līdzekļiem, piemēram, linkosamīdiem un streptogramīniem. Iepriekš minētajiem mehānismiem ir acīmredzama negatīva ietekme uz MLS klases antibiotiku terapeitisko efektivitāti [24]. Turklāt tika atklātas būtiskas izmaiņas cinka un vara rezistences regulatoros. Daži jaunākie pētījumi, galvenokārt veterinārijā, apstiprināja ciešu korelāciju starp vara rezistenci pret makrolīdiem un rezistenci pret glikopeptīdiem [105, 106]. Iegūtie rezultāti liecina par satraucošu tendenci iegūt ilglaicīgu multirezistenci pret medikamentiem (*multidrug-resistance*) un rezistenci pret metāliem pēc makrolīdu terapijas. Noturīga zarnu mikrobiotas rezistence pret makrolīdiem pēc eradikācijas ir pierādīta jau agrāk: trīskārša terapija, kas ietver divas antibiotikas, var izraisīt rezistences veidošanos *Streptococci*, *Staphylococci*, *Enterococci*, *Enterobacteriaceae* un *Bacteroides* sugās pat pēc 1–4 gadiem [92, 107-110].

Jāuzsver vairākas svarīgas mūsu pētījuma stiprās puses. Šī pētījuma galvenā priekšrocība ir tā, ka tika izmantoti nejausināti kontrolēti izmēģinājumi, kas tiek uzskatīti par zelta standartu klīniskajos pētījumos. Pētījumā tika izmantotas skaidras randomizācijas procedūras, precīzi definētas kontroles grupas, un tajā tika iekļauta gan “nolūks ārstēt” (*intention-to-treat*), gan “pēc protokola” (*per-protocol*) analīze. Šie metodoloģiskie risinājumi uzlabo rezultātu ticamību un samazina iespējamās kļūdas. Tika iekļauti dalībnieki no vispārējās populācijas kohortas, t. i., populācija, kurai rekomendēta kuņģa vēža profilakse ar *H. pylori* eradikāciju. Ņemot vērā, ka netika iekļauti dalībnieki, kuriem iepriekš veikta *H. pylori* eradikācija, iepriekšējās eradikācijas terapijas potenciālā ietekme uz zarnu rezistomu ir minimāla. Svarīgi, ka mūsu pētījums tika veidots, iekļaujot kontroles grupu. Lai aplūkotu mikrobioma un rezistentu baktēriju kopienu daudzveidību visos paraugos, tika izmantota metagenoma sekvenēšana. Salīdzinājumā ar analogiskiem pētījumiem paraugu skaits bija liels. Mēs uzskatām, ka izvirzīto modeli, iespējams, varētu lietot terapijas shēmas novērtēšanai, pirms to ieteikt plašākai izmantošanai.

Jānorāda daži Pētījuma 1 ierobežojumi. Lai gan pētāmo personu grupa salīdzinājumā ar citiem pētījumiem bija salīdzinoši liela, vēl lielāks pētāmo personu skaits būtu ļāvis iegūt pārliecinošākus rezultātus. Biežāki paraugu ņemšanas atkārtojumi un paraugu ņemšanas laika punkti būtu ļāvuši labāk demonstrēt zarnu mikrobioma atjaunošanos un rezistoma dinamiku. Jāatzīmē, ka AMX/BI nerasniedza minimālo nepieciešamo efektivitātes sliekšni, un tāpēc to nevar ieteikt izmantot ikdienas lietošanai, lai gan ietekme uz zarnu rezistomu bija labvēlīgāka. Pētījums 2 saskārās ar grūtībām, jo īpaši ar dalībnieku skaita samazināšanos kontroles posmā. Tas izraisīja nevienmērīgu sadalījumu ārstēšanas grupās un, iespējams, radīja novirzes ārstēšanas efektivitātes novērtēšanā. Samazinātais kontroles koeficients pazemināja statistisko jaudu, kas kritās līdz 0,73, salīdzinot 10 dienu režīmu ar probiotikām un bez tām, un kritās līdz 0,76, salīdzinot 10 un 14 dienu režīmu ar probiotikām. Izlases lieluma palielināšana, potenciāli, būtu sniegusi pārliecinošākus rezultātus.

Rezumējot, pētījums pierāda, ka tradicionālā 14 dienu trīskāršā eradikācijas terapija, kuras pamatā ir klaritromicīns, palielina rezistentu baktēriju skaitu zarnās, kas saglabājas vismaz sešus mēnešus pēc ārstēšanas. Lai no tā izvairītos, kuņģa vēža profilaksē plašākai izmantošanai jādod priekšroka terapijai bez klaritromicīna. Lai gan pētītā bismutu saturošā terapija (AMX/BI) mazāk ietekmēja zarnu rezistomu, šīs ārstēšanas shēmas plašu lietošanu nevar rekomendēt vispārējā populācijā, jo tās efektivitāte bija nepietiekama. Viens no potenciālajiem risinājumiem būtu bismutu saturoša četrkāršā terapija bez makrolīdiem vai terapija ar lielu amoksicilīna devu kombinācijā ar kālija konkurējošiem skābes blokatoriem ar vai bez bismuta. Tomēr, pirms šīs terapijas rekomendē lietot vispārējā asimptomātiskā populācijā, būtu jāizvērtē ne tikai to efektivitāte, bet arī ietekme uz zarnu rezistomu [6].

SECINĀJUMI

Šis pētījums pievēršas nozīmīgai globālai veselības problēmai – *H. pylori* infekcijai un rezistencei pret antibiotikām. Pētījuma rezultāti sniedz vērtīgu ieskatu par *H. pylori* eradikācijas alternatīvo režīmu efektivitāti un identificē jomas, kurās pašreizējās ārstēšanas stratēģijas būtu jāuzlabo.

1. Augstas devas amoksicilīna/bismuta režīms demonstrē zemāku eradikācijas līmeni salīdzinājumā ar standarta trīskāršo klaritromicīnu saturošo terapiju. Tādēļ bismuta pievienošana augstas devas amoksicilīna režīmam nav ieteicama, jo šī kombinācija nesasniedz nepieciešamo efektivitātes sliekšni. Lai gan šī shēma potenciāli varētu samazināt makrolīdu lietošanu, ir nepieciešamas turpmākas modifikācijas, lai uzlabotu tās efektivitāti. Pievienojot *S. boulardii* standarta trīskāršajai terapijai, bija vērojama efektivitātes uzlabošanās tendence, bet tas nenodrošināja statistiski nozīmīgu kopējo eradikācijas rādītāju pieaugumu. Šie secinājumi liecina, ka, lai arī probiotiku pievienošana ir daudzsoļa ārstēšanas rezultātu uzlabošanā, tās ietekme uz kopējo eradikācijas efektivitāti ir jāturpina pētīt.
2. Salīdzinājumā ar standarta klaritromicīnu saturošo shēmu, augstas devas amoksicilīna/bismuta režīms ievērojami mazāk provocē nevēlamas blakusparādības, piemēram, caureju un diskomfortu kuņģa-zarnu traktā. Par spīti tam, amoksicilīna/bismuta režīmu nevar rekomendēt plašai lietošanai, jo tas nesasniedza nepieciešamo efektivitātes sliekšni. Arī *S. boulardii* pievienošana standarta trīskāršajai terapijai uzrādīja tendenci samazināt blakusparādības, jo īpaši samazinot caurejas sastopamību 14 dienu apakšgrupā. Tomēr šis izmaiņas nav statistiski nozīmīgas.
3. Nevēlamo blakusparādību skaita un intensitātes samazināšanās amoksicilīna/bismuta apakšgrupā, kā arī *S. boulardii* papildus lietošana, iespējams, veicina relatīvi augstāku ārstēšanas shēmas ievērošanu. Mazāks blakusparādību skaits var veicināt labāku ārstēšanas noteikumu ievērošanu, kas uzlabo ārstēšanas vispārējos panākumus.
4. Standarta uz klaritromicīnu balstīta trīskārša *H. pylori* eradikācijas terapija palielina rezistentu baktēriju skaitu, tādējādi ietekmējot zarnu rezistomu. Šī ietekme uz rezistomu saglabājas vismaz sešus mēnešus pēc ārstēšanas beigām. Līdz ar to kuņģa vēža profilakses nolūkos šī terapija nav ieteicama pat reģionos, kur ir zema *H. pylori* rezistence pret klaritromicīnu. Būtu ieteicama citu terapijas shēmu izmantošana, izvērtējot konkrētās terapijas ietekmi uz zarnu mikrobiomu pirms plašākas ieviešanas.
5. Minētie secinājumi liecina, ka ir nepieciešamas alternatīvas *H. pylori* izskaušanas stratēģijas, kas mazinātu rezistenci pret antibiotikām un nelabvēlīgo

ietekmi uz zarnu veselību. Šie dati pamato nepieciešamību pārskatīt klaritromicīnu saturošas terapijas plašo lietošanu reģionos ar augstu rezistenci, iesakot iekļaut bismuta saturošus režīmus kā pirmās līnijas ārstēšanas iespējas, kur tas ir lietderīgi. Lai gan lielu amoksicilīna/bismuta devu režīms ir daudzsološs attiecībā uz nevēlamo blakusparādību un mikrobioma traucējumu mazināšanu, tā zemāka efektivitāte mudina turpināt tā optimizēšanu.

TURPMĀKIE VIRZIENI UN SECINĀJUMU ĪSTENOŠANA

Šie secinājumi uzsver nepieciešamību turpināt pētījumus, lai optimizētu *H. pylori* eradikācijas stratēģijas, līdzsvarojot efektivitāti ar labvēlīgāku ietekmi uz mikrobu rezistenci un pacientu labklājību. Turpmākajos pētījumos uzmanība jāpievērš ārstēšanas protokolu uzlabošanai, lai palielinātu eradikācijas rādītājus, samazinātu nevēlamo notikumu skaitu un saglabātu zarnu mikrobioma integritāti, tādējādi uzlabojot ārstēšanas rezultātus un shēmas ievērošanu no pacientu puses. Mēs ierosinām, ka slimību profilaksē, ieviešot jaunus uz antibiotikām balstītus terapijas režīmus, piemēram, kuņģa vēža profilaksei, ir jāveic izpēte par ilgtermiņa ietekmi uz zarnu rezistomu indukcijas potenciālu.

Ieteicams izveidot ilgtermiņa uzraudzības un monitoringa programmas, lai efektīvi novērtētu eradikācijas ilgspēju, atklātu infekcijas atkārtēšanos un uzraudzītu ilgtermiņa ietekmi uz zarnu veselību, jo īpaši potenciālu rezistentu celmu attīstību.

PATEICĪBA

Vislielāko pateicību izsaku savam zinātniskajam vadītājam un iedvesmotājam **profesoram Mārcim Lejam** par ilgstošo atbalstu, vērtīgajiem padomiem un iespēju doties šajā aizraujošajā akadēmiskajā ceļojumā.

No sirds pateicos **savai ģimenei** par neatsveramo atbalstu un iedrošinājumu turpināt iesākto darbu.

Īpaša pateicība **profesorei Liliānai Civjānei** – Jūs man esat kļuvusi par patiesu paraugu gan dzīvē, gan akadēmijā. Paldies arī **Inesei Poļakai** par vienmēr sniegto palīdzību sarežģītās situācijās.

Pateicos **Reinim Vangravam, Daigai Šantarei, Ilvai Daugulei, Danutei Ražukai-Ebelai, Aigai Rūdulei**, visai komandai un visiem līdzautoriem – bez jūsu ieguldījuma šis darbs nebūtu tapis.



UNIVERSITY OF
LATVIA

FACULTY OF MEDICINE AND LIFE SCIENCES

Olga Sjomina-Gubareva

**ADVANCING TOWARDS SAFER AND
MORE EFFECTIVE ERADICATION
REGIMENS FOR HELICOBACTER PYLORI
INFECTION**

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS – COLLECTION
OF PUBLICATIONS

Submitted for the degree of Doctor of Medicine (Ph. D.)
in Medicine and Health Sciences
Field of Clinical Medicine
Subfield: Internal Medicine

Riga 2025

The doctoral thesis was carried out at the Chair of the Faculty of Medicine and Life Sciences, University of Latvia and the Institute of Clinical and Preventive Medicine from 2018 to 2025 year.



INSTITUTE OF
CLINICAL AND
PREVENTIVE MEDICINE
FACULTY OF MEDICINE
AND LIFE SCIENCES



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

The thesis contains the introduction, 5 chapters, conclusions, reference list, acknowledgements.

Form of the thesis: collection of publications in Clinical medicine, Internal Medicine.

Supervisor: Prof. **Mārcis Leja**, MD, PhD – University of Latvia, Latvia.

Reviewers:

1. Prof. **Aldis Puķītis**, MD, PhD – University of Latvia, Latvia;
2. Prof. **Juris Pokrotņieks**, MD, PhD – Rīga Stradiņš University, Latvia;
3. Prof. emeritus **Francis Mégraud**, MD, PhD – University of Bordeaux, France.

The doctoral thesis defense will take place on 27 June 2025 at 13:00 in Room 301, House of Nature, University of Latvia, Jelgavas Street 1, during an open session of the Promotion Council for Medical and Health Sciences of the University of Latvia.

The thesis is available at the Library of the University of Latvia, Kalpaka blvd. 4.

Chairman of the Doctoral Committee _____ / Prof., *Dr. med.* Valdis Pīrāgs /

Secretary of the Doctoral Committee _____ / *Asoc. prof. Dr. biol.* Līga Plakane /

© University of Latvia, 2025
© Olga Sjomina-Gubareva, 2025

ISBN 978-9934-36-396-2
ISBN 978-9934-36-397-9 (PDF)

ANNOTATION

Background: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), a significant risk factor for gastric cancer and various non-malignant gastrointestinal diseases, presents a global health challenge, particularly due to rising antibiotic resistance. The traditional treatment regimens often compromise the gut microbiota and patient compliance, emphasising the need for more effective and safer therapies.

Aims: the thesis aims to evaluate novel *H. pylori* eradication regimens that offer higher efficacy while minimising negative impacts on the gut microbiome and enhancing patient compliance. The focus is on exploring alternatives to standard clarithromycin-based treatments.

Methods: two randomized controlled studies were designed. The first trial (Trial 1) compared high-dose amoxicillin/bismuth therapy with standard clarithromycin-based triple therapy, assessing efficacy, adverse events, and their impact on gut microbiota and resistome composition. The second trial (Trial 2) evaluated the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on efficacy, compliance, and adverse events across four clarithromycin-based regimens, differing by therapy duration and probiotic use. Both randomized controlled trials were part of the larger GISTAR study, involving adults aged 40–64 from the general population. In Trial 1, patients were randomly assigned to receive either standard clarithromycin-based triple therapy (clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg, esomeprazole 40 mg, all BID, referred to as AMX/CLARI) or high-dose amoxicillin/bismuth therapy (bismuth subcitrate 240 mg BID, amoxicillin 1000 mg TID, esomeprazole 40 mg BID, referred to as AMX/BI), while the control group participants were having similar characteristics and unknown *H. pylori* status. In Trial 2, all participants received clarithromycin-containing triple therapy (clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg, esomeprazole 40 mg BID), with randomization based on two factors: the addition of *S. boulardii* CNCM I-745 500 mg BID or not, and treatment duration of 10 or 14 days. Efficacy was assessed six months post-treatment using follow-up urea breath tests (UBT), analyzed on both intention-to-treat and per-protocol bases. Adverse events and compliance were evaluated via telephone interviews within 21–28 days after treatment initiation. In Trial 1, changes in gut microbiota composition were analyzed before eradication and six months later from stool samples using Shotgun metagenomic sequencing on the DNBSEQ-G400 platform (MGI, China).

Results: in Trial 1, which involved 483 subjects with *H. pylori* infection, the AMX/CLARI group showed higher efficacy in per-protocol analysis than AMX/BI (88.4% vs. 77.0%, $p < 0.001$) with no difference in compliance.

Therapy-related adverse effects were significantly less common in the AMX/BI group (56.9% vs. 40.0%, $p < 0.01$). Microbiota analysis revealed a significant difference in antimicrobial resistance gene counts in the AMX/CLARI group compared to controls ($p = 0.05$). Still, alpha and beta diversities were almost restored six months after therapy. In Trial 2 with 404 participants, the 10-day probiotic treatment showed higher eradication rates in the intention-to-treat analysis (70.8% vs. 54.6%, $p = 0.022$), while the 14-day regimen did not when compared to regimens of corresponding duration without the supplementation. Combined probiotic subgroups had non-significantly higher efficacy in the per-protocol analysis (90.6% vs 85.0%, $p = 0.183$). *S. boulardii* reduced the frequency of adverse events ($p = 0.033$), especially treatment-associated diarrhoea ($p = 0.032$) in the 14-day regimen. However, after applying the Bonferroni adjustment, the difference between the tests was no longer significant.

Conclusions: the high-dose amoxicillin/bismuth therapy was related to a lower frequency of adverse effects when compared to the standard clarithromycin-based triple regimen; however, the relatively low efficacy of this therapy does not justify its routine use. Further investigation is needed to modify high-dose amoxicillin and bismuth-containing regimens to enhance efficacy. The study did not support the recommendation for routine use of *S. boulardii* in the eradication of *H. pylori*, as the effectiveness was not significantly improved. However, a trend towards higher efficacy in the 10-day *intention-to-treat* group, and reduced adverse events in the 14-day per-protocol group warrant further investigation in larger studies. The standard clarithromycin-based therapy induced significantly increased resistant bacteria communities in the gut, with these effects persisting for at least six months. This finding suggests that other therapies should be preferred when *H. pylori* eradication is planned in “screen and treat” strategy settings – meaning broad use of the regimen in otherwise healthy subjects.

Assessing the long-term impact on gut resistome induction is essential before introducing new antibiotic-based therapy regimens for preventive purposes, such as gastric cancer prevention.

CONTENTS

INTRODUCTION	57
Aim of the research	59
Scientific hypothesis	59
Scientific objectives	60
Novelty of the research	60
International recognition of research results	61
Participation in scientific projects	61
Scientific publications	61
Presentations at international congresses and conferences	63
Other scientific activities	67
LITERATURE REVIEW	68
Overview of the history of <i>H. pylori</i> treatment	68
Management of <i>H. pylori</i> infection	68
Overview of the studied eradication regimens	70
Standard triple therapy	71
High-dose PPI-amoxicillin dual therapy	71
Role of the bismuth in <i>H. pylori</i> eradication	72
Role of probiotics in eradication of <i>H. pylori</i>	72
MATERIALS AND METHODS	74
The overall design	74
<i>H. pylori</i> assessment	74
Treatment arms	74
Efficacy, adverse events, and compliance	75
Follow-up evaluation of gut microbiota	75
Sample processing and microbiota analysis	75
Data analysis	76
Ethics	77
RESULTS	78
Compliance	80
Frequency of adverse events	81
Efficacy of the eradication regimens	83

Follow-up evaluation of gut microbiota (Trial 1)	84
Overall microbial community overview in Trial 1	85
Differences in ARGs between the two therapy regimens and controls	88
Characterization of resistance gene mechanisms	90
DISCUSSION	91
CONCLUSIONS	96
FUTURE DIRECTIONS AND IMPLEMENTATION OF FINDINGS	98
REFERENCES	99
ACKNOWLEDGEMENTS	106

INTRODUCTION

Significance of the issue

Persistent infection with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a significant risk factor for a range of gastrointestinal and extra-intestinal disorders, notably playing a pivotal role in the multi-stage process of gastric carcinogenesis [1, 2]. The incidence of *H. pylori* infection exhibits considerable global variation, ranging from 20% to 90% across different populations, with an average prevalence of approximately 44% [3, 4]. Notably, the prevalence of this infection escalates with age, averaging 32.6% in the pediatric demographic and 48.6% in the adult population. This trend is predominantly ascribed to the impact of generational exposure differences [3, 5]. *H. pylori* infection is implicated in 90% of non-cardia gastric cancer cases [6]. According to GLOBOCAN 2022, there were over 968,000 new cases of stomach cancer and nearly 660,000 deaths, making it the fifth most common cancer and the fifth leading cause of cancer-related mortality worldwide. Among men, it is the most frequent cancer and the leading cause of cancer death in several South-Central Asian countries [7].

The Kyoto Global Consensus Report advocates eradicating *H. pylori* infection before the onset of pre-cancerous alterations [8]. A 14-day regimen of clarithromycin-based triple therapy has been the predominant treatment strategy for *H. pylori* eradication in Europe, with a few exceptions [9]. Recent findings from the European Registry on *H. pylori* management suggest that in Europe, the prevalent approach for initial treatment still predominantly relies on triple therapy with amoxicillin and clarithromycin, accounting for 39% of first-line treatments, even though this should not be recommended for empiric first-line treatment in most of the European Union countries. This method demonstrates less-than-ideal success rates, achieving only an 81.5% eradication rate [9]. This trend may reflect either a lack of awareness regarding recommended practices or limited access to more effective eradication regimens that are as well-accepted as the standard clarithromycin-containing triple therapy.

The escalating rates of *H. pylori* antibacterial resistance and the corresponding decrease in the success rates of eradication treatments present a significant global challenge [10, 11]. In response to this issue, the Maastricht VI guidelines have advocated for a 14-day treatment duration, an extension from the previously recommended seven days in 2005 and ten days in 2010, aimed at enhancing treatment efficacy [1, 12]. Nevertheless, this extended therapy is associated with a range of adverse effects, including diarrhea, and nausea, among others.

Notably, the prolongation of the standard treatment regimen often results in more severe and enduring side effects [13, 14].

In addition to the fact that *H. pylori* is becoming increasingly resistant to the use of standard antibiotics, including clarithromycin and fluoroquinolones [15], antibiotics may induce an increase in the overall resistant bacteria in the gut [16]. Antibiotic resistance can be acquired through different mechanisms – by single-nucleotide polymorphisms (SNPs) or by acquiring antimicrobial resistance-conferring genes (ARGs) [17-19]. ARGs can be transferred among bacteria by mobile genetic elements, bacteriophages, and as the result of natural transformation [20, 21]. Typical resistance mechanisms specifically for macrolides are efflux, modification of the target ribosomal RNA, and enzymatic inactivation of the drug [22, 23]. Ribosomal methylation seems to be the most widespread mechanism of resistance so far [24]. Most commonly, it is caused by *erm* (erythromycin ribosome methylase) genes, encoding 23S rRNA methyltransferases, and *mph* genes, encoding GTP-dependent macrolide 2'-phosphotransferases [22, 23, 25]. Ribosomal target methylation is also known for the induction of a cross-resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins B, forming an MLS_B phenotype. Another essential mechanism, significantly contributing to the acquired macrolide resistance, is antibiotic efflux aimed to decrease intracellular drug accumulation. Based on the structural and functional features transporters are divided into five so-called “superfamilies” – the major facilitator superfamily (MFS), the ATP-binding cassette (ABC) superfamily, the small multidrug resistance (SMR) superfamily, the resistance-nodulation-cell division (RND) superfamily, and the multidrug and toxic compound extrusion superfamily (MATE) of transporters [24, 26, 27]. Similarly, bacteria protect themselves from metal intoxication such as zinc, copper, and iron, becoming multidrug- and metal-resistant [28]. A multiplicity of resistance mechanisms leads to diversity in resistance phenotypes and decreases the efficacy of macrolides in treating infectious diseases [24, 29].

Antimicrobial resistance is considered a major concern in healthcare organizations. It has been predicted that by 2050 mortality from antimicrobial resistance will be more common than mortality from malignant diseases. The search for an effective therapy that does not cause long-term negative changes in the microbiome is a priority for the current generation [30].

Although discouraged by guidelines outside low *H. pylori* resistance areas [12], so far, clarithromycin-containing triple regimens remain among the most widely used therapies in Europe [9]. The use of clarithromycin and metronidazole has been related to the emergence of resistant strains in *Enterococci* and *Enterobacteria*, while this has not been observed with amoxicillin [9]. Therefore, the use of high-dose amoxicillin regimens is one of the potential approaches for decreasing the risk of resistance development. The gain in the efficacy of this regimen can be reached with the addition of bismuth-based

therapies [15, 16, 31]. Those have been reported to increase the effectiveness of eradication by overcoming *H. pylori* resistance. Furthermore, they are not related to the induction of microbiome resistance as well as serious adverse events [6].

Bismuth's role in eradication therapy is witnessing a revival due to the introduction of a fixed capsule combination [32]. Additionally, combining bismuth with standard triple therapy has been effective in achieving high eradication rates, particularly against resistant bacterial strains [16]. Bismuth-based therapies are increasingly being integrated into standard quadruple combinations or added to other regimens, like clarithromycin-based triple therapies, to enhance effectiveness and counter *H. pylori* resistance. These therapies appear to have a minimal impact on the gut resistome, a factor considered in our study's use of a bismuth-based combination [33]. Previous research has shown that bismuth does not cause long-term effects on *E. coli* resistance [34, 35].

Furthermore, numerous studies have documented the efficacy of various probiotics in suppressing *H. pylori* through both immunological and non-immunological mechanisms. These include modulating the host's immune response and directly impacting bacterial proliferation [36]. Specifically, *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) has been shown to impede the adhesion of *H. pylori* to the gastric mucosa, attributed to its neuraminidase activity [36, 37].

In summary, the effectiveness of *S. boulardii* in *H. pylori* eradication varies across studies, with some showing modest improvements in eradication rates and a reduction in side effects, especially diarrhoea.

Aim of the research

The experimental aspect of this doctoral research aimed to identify and evaluate an eradication regimen for *H. pylori* that effectively balances high efficacy with minimal long-term impact on the gut microbiome. The study aimed to develop a treatment approach that reduces adverse side effects and enhances patient compliance. To achieve this, we executed two parallel studies, similar in methodology that compared various *H. pylori* eradication regimens, each defined by distinct characteristics.

Scientific hypothesis

The use of a high-dose amoxicillin/bismuth regimen or the modification of traditional macrolide-containing triple therapy by adjunct probiotic *S. boulardii* supplementation in *H. pylori* eradication therapy:

1. improves treatment outcomes by reducing adverse events;
2. enhances the efficacy of the eradication;

3. increases the compliance with the treatment;
4. a non-macrolide high-dose amoxicillin/bismuth regimen preserves gut microbiome health without causing long-term alterations and reduces the risk of resistome building.

Scientific objectives

1. To evaluate the efficacy of *H. pylori* non-macrolide high-dose amoxicillin/bismuth regimen or the modified traditional macrolide-containing triple regimens with and without the addition of *S. boulardii*, focusing on the overall success rates of eradication.
2. To assess the incidence and severity of adverse events associated with studied *H. pylori* eradication regimens, including the effects of *S. boulardii* supplementation.
3. To determine patient compliance with *H. pylori* eradication regimens, and identify factors that influence adherence to treatment protocols.
4. To compare the impact of *H. pylori* eradication regimens on the gut microbiome, assessing the long-term effects of a high-dose amoxicillin/bismuth-containing regimen versus a standard clarithromycin-based triple therapy.
5. To contribute to public health guidelines by identifying *H. pylori* eradication strategies that optimise efficacy while minimising negative impacts on gut microbiome health and patient well-being.

Novelty of the research

1. This research contributes to the innovative GISTAR study, a large-scale, population-based investigation, combining the strengths of a randomized controlled trial with broader population-level findings into *H. pylori* eradication and its potential role in preventing gastric cancer.
2. This investigation represents the first comprehensive assessment of the efficacy of high-dose amoxicillin in combination with bismuth as a first-line treatment for *H. pylori* eradication in a Caucasian population.
3. It focus on long-term resistome impact: unlike previous studies that primarily evaluated short-term microbiome and resistome alterations, our research extends the observation period to six months, offering insights into the persistent effects of different eradication regimens on gut resistome.
4. This is the first large-scale randomized controlled trial in Europe comparing adverse event frequencies across multiple treatment regimens, examining the impact of treatment components and duration.
5. The study integrates state-of-the-art bioinformatics pipelines (e.g., StaG-mwc, Kraken2, Bracken, AmrPlusPlus) and comprehensive statistical

corrections to ensure data accuracy, minimize biases, and provide reliable conclusions.

International recognition of research results

Findings regarding the impact of clarithromycin use on the emergence of resistant strains in the gut microbiome were published in the journal *Gut* in 2024. This journal is particularly notable for publishing the Maastricht guidelines, which are considered one of the most authoritative in the field of *H. pylori* treatment and related research.

Participation in scientific projects

1. Laboratory assistant: “Evaluation of the possibilities to decrease gastric cancer caused mortality in Latvia”, ZD2014/29893, 07.09.2016–30.11.2016;
2. Research assistant: “Research in the field of oncology and oncoprevention, including biomarker and microbiome studies (Research on biomarkers and natural substances for the diagnosis of acute and chronic diseases and personalized treatment)”, AAP2016/AZ138, 12.05.2017–30.09.2018, 01.07.2022–31.12.2023.
3. Research assistant: “Study on implementing a set of measures to prevent mortality caused by gastric cancer by eradicating *H. pylori* infection and detecting precancerous gastric conditions on time”, LZP2018/23, 01.10.2018–31.08.2019.
4. Research assistant: “Optimization of the *H. pylori* eradication regimen for large-scale gastric cancer prevention measures”, ESS2019/317, 01.09.2019–31.03.2022.

Scientific publications

1. **Sjomina O**, Poļaka I, Suhorukova J, Vangravs R, Paršutins S, Knaze V, Park JY, Herrero R, Murillo R, Leja M. Randomised clinical trial: efficacy and safety of *H. pylori* eradication treatment with and without *Saccharomyces boulardii* supplementation. *Eur J Cancer Prev.* 2024 May 1;33(3):217-222. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000858. Epub 2023 Nov 6. PMID: 37942999.
2. **Sjomina O**, Vangravs R, Ļeonova E, Poļaka I, Pūpola D, Čivkulis K, Jeniceka A, Paršutins S, Stonāns I, Park JY, Engstrand L, Leja M. Clarithromycin-containing triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication is inducing increased long-term resistant bacteria communities in the gut. *Gut.* 2024 Jun 6;73(7):1214-1215. doi: 10.1136/gutjnl-2023-329792. PMID: 37364984.
3. Gašenko E, Bogdanova I, **Sjomina O**, Aleksandraviča I, Kiršners A, Ancāns G, Rudzīte D, Vangravs R, Siviņš A, Škapars R, Tzivian L, Polaka I,

- Folkmanis V, Leja M. Assessing the utility of pepsinogens and gastrin-17 in gastric cancer detection. *Eur J Cancer Prev.* 2023 Sep 1;32(5):478-484. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000791. Epub 2023 Mar 13. PMID: 36912185.
4. Robles C, Rudzite D, Polaka I, **Sjomina O**, Tzivian L, Kikuste I, Tolmanis I, Vanags A, Isajevs S, Liepniece-Karele I, Razuka-Ebela D, Parshutin S, Murillo R, Herrero R, Young Park J, Leja M. Assessment of Serum Pepsinogens with and without Co-Testing with Gastrin-17 in Gastric Cancer Risk Assessment-Results from the GISTAR Pilot Study. *Diagnostics (Basel).* 2022 Jul 19;12(7):1746. doi: 10.3390/diagnostics12071746. PMID: 35885649; PMCID: PMC9325279.
 5. **Sjomina O**, Lielausa A, Rūdule A, Vangravs R, Paršutins S, Poļaka I, Daugule I, Stonāns I, Park JY, Leja M. Randomised clinical trial: comparison of efficacy and adverse effects of a standard triple clarithromycin-containing regimen with high-dose amoxicillin and bismuth therapy in *Helicobacter pylori* eradication. *Eur J Cancer Prev.* 2022 Jul 1;31(4):333-338. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000718. Epub 2021 Dec 20. PMID: 35471812.
 6. Gasenko E, Isajevs S, Camargo MC, Offerhaus GJA, Polaka I, Gulley ML, Skapars R, Sivins A, Kojalo I, Kirsners A, Santare D, Pavlova J, **Sjomina O**, Liepina E, Tzivian L, Rabkin CS, Leja M. Clinicopathological characteristics of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019 Nov;31(11):1328-1333. doi: 10.1097/MEG.0000000000001521. PMID: 31569122; PMCID: PMC8560222.
 7. Case report: Epstein-Barr virus positive gastric carcinoma / Gasenko E., Hegmane A., Plate S., Zvirbule Z., Elsberga E., **Sjomina O.**, Preimane S., Skapars R., Pavlova J., Tzivian L., Sivins A. // *Integrative Gastroenterology and Hepatology* Vol.2, N 1 (2019), p.145-151.
 8. **Sjomina O**, Pavlova J, Niv Y, Leja M. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2018 Sep;23 Suppl 1:e12514. doi: 10.1111/hel.12514. PMID: 30203587.
 9. **Sjomina O**, Pavlova J, Daugule I, Janovic P, Kikuste I, Vanags A, Tolmanis I, Rudzite D, Polaka I, Kojalo I, Liepniece-Karele I, Isajevs S, Santare D, Pirags V, Pahomova J, Dzerve V, Tzivian L, Erglis A, Leja M. Pepsinogen test for the evaluation of precancerous changes in gastric mucosa: a population-based study. *J Gastrointest Liver Dis.* 2018 Mar;27(1):11-17. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.271.pep. PMID: 29557410.
 10. **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Evita Gashenko, Nadezda Vorobjova, Armands Sivins. Case report: High-volumetric atypical hemihepatectomy in patient with colorectal cancer with extensive metastatic disease / References: p. 4. // *Liver and Pancreatic Sciences.* Vol. 2, N 1 (2017), p. 1-4. doi: 10.15761/LPS.1000110.

11. **Sjomina O**, Heluwaert F, Moussata D, Leja M. Helicobacter pylori infection and nonmalignant diseases. *Helicobacter*. 2017 Sep;22 Suppl 1. doi: 10.1111/hel.12408. PMID: 28891136.

Presentations at international congresses and conferences

1. Reflux esophagitis associated with false negative cases in pepsinogen testing for precancerous gastric lesions / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Inguna Ebela, Ilva Daugule, Rolando Herrero, Mārcis Leja, Daiga Santare, **Olga Sjomina-Gubareva**, Sergey Parshutin // Microbiota in Health and Disease : European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG): Abstracts 2704-8845 Vol. 4, N 3: e735 (2022), p. 68. doi:10.26355/mhd_20229_735.
2. Addition of Saccharomyces Boulardii to Standard Triple Therapy in Eradication of H. pylori: Comparison of Adverse Events and Effectiveness / **Olga Sjomina-Gubareva**, Jekaterīna Suhorukova, Aiga Rūdule, Reinis Vangravs, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Park Jin Yong, Mārcis Leja // Medicina (Kaunas) Vol. 58, Suppl. 1: Abstracts of the 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia (2022), p. 168.
3. The comparison of standard triple therapy effectiveness after addition of Saccharomyces boulardii / **Olga Sjomina-Gubareva**, Reinis Vangravs, Aiga Rūdule, Inese Poļaka, Sergejs Paršutins, Dārta Pūpola, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // EHMSG – 35th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer, September 8 – 10, 2022, Glasgow, United Kingdom : Abstracts / European Helicobacter and Microbiota Study Group. Glasgow, 2022. P02.27, p. 54-55. doi:10.26355/mhd_20229_735.
4. Effect of smoking on serum pepsinogen values modified by the presence of Helicobacter pylori / D. Razuka-Ebela, I. Polaka, S. Parshutin, I. Ebela, I. Daugule, D. Santare, **O. Sjomina**, M. Leja. (Abstracts) // European Journal of Clinical Investigation Vol. 52, SI 1: 56th Annual Scientific Meeting, 8-10 June, 2022, Bari, Italy (2022), Abstract Number: 56ASM-0210, p. 169.
5. Current Smoking Associated with Precancerous Gastric Lesions “Missed” by Serologic Pepsinogen Testing / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Sergei Parshutin, Inguna Ebela, Ilva Daugule, Daiga Santare, **Olga Sjomina**, Herrero Rolando, Jin Young Park, Marcis Leja. // Medicina (Kaunas) Nr. 58, Suppl.1: Abstracts of the 80th International Scientific Conference of the University of Latvia Riga, Latvia (2022), p. 22.
6. Addition of Saccharomyces boulardii to standard triple therapy in eradication of H. pylori: adverse events and compliance / **Olga Sjomina-Gubareva**, Jekaterīna Suhorukova, Reinis Vangravs, Aiga Rūdule, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Dārta Pūpola, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // EHMSG – 34th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in

- Inflammation & Cancer, Virtual Conference, September 18, 2021 : Accepted Abstracts / European Helicobacter and Microbiota Study Group [Virtual Conference], 2021. P02.30, p. 42-43.
7. Comparison of the adverse events and compliance to standard triple therapy in eradication of *H. pylori* with *Saccharomyces boulardii* addition / **Olga Sjomina-Gubareva**, Jekaterīna Suhorukova, Aiga Rūdule, Reinis Vangravs, Dārta Pūpola, Sergejs Paršutins, Inese Poļaka, Ilva Daugule, Ilmārs Stonāns, Mārcis Leja // GASTRO 2021 Prague : A Joint Meeting WGO/CSG, 9-11 December, 2021, Prague, Czech Republic : Abstract Book Prague : GUARANT International spol. s r.o, 2021 P. 190.
 8. The comparison of side effects and effectiveness of standard triple therapy with clarithromycin and alternative high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / A. Lielausa, **O. Sjomina**, A. Rūdule, J. Priedola, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, I. Poļaka, E. Cine, G. Šķenders, D. Ražuka-Ebela, M. Leja // *Helicobacter* Vol. 25, SI: 33rd International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer (EHMSG), Virtual Conference, September 12, 2020 : Accepted Abstracts (2020), Meeting Abstract: EP2.27, p. 33.
 9. Presence and severity of symptom-based gastroesophageal reflux disease associated with levels of pepsinogen / Danute Razuka-Ebela, Inese Polaka, Sergei Parshutin, Daiga Santare, Inguna Ebela, **Olga Sjomina**, Raul Murillo, Rolando Herrero, Jin Young Park, Marcis Leja // *Medicina (Kaunas)* Nr. 56, Suppl.1: Abstracts of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia Riga, Latvia (2020), p. 21.
 10. Serologically determined gastric atrophy associated with lifestyle, dietary factors and *Helicobacter pylori* status / Razuka-Ebela D., Polaka I., Parshutin S., Daugule I., Ebela I., Santare D., **Sjomina O.**, Herrero R., Park J. Y., Leja M. // *United European Gastroenterology Journal* Vol.8, Suppl.8: 28th United European Gastroenterology Week Virtual 2020, Poster number P0193, p. 228. doi: 10.1177/2050640620927345.
 11. Prolongation of hospitalization period among malnourished patients: contributing factors / **Olga Sjomina**, Aleksejs Derovs, Alina Graubergere, Aleksandra Jenicka, Alise Lielausa, Ilva Daugule, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Oļesja Basina, Mārcis Leja, Lilian Tzivian // *Medicina (Kaunas)* Vol. 55, Suppl.1 : International Scientific Conference on Medicine, 77th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, February 22, 2019 : Abstracts (2019), p. 54.
 12. Reliability of nutrition assessment tools in predicting prolonged hospitalization / **Olga Sjomina**, Aleksejs Derovs, Alina Graubergere, Aleksandra Jenicka, Alise Lielausa, Ilva Daugule, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Oļesja Basina, Mārcis Leja, Lilian Tzivian // *Medicina (Kaunas)* Vol. 55, Suppl.1 : International Scientific Conference on Medicine, 77th International

- Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, February 22, 2019 : Abstracts (2019), p. 55.
13. Contributing factors of prolonged hospitalization in malnourished patients / **Olga Sjomina**, Lilian Tzivian, Alina Graubergere, Aleksandra Jeniceka, Zane Dzerve, Igors Gubarevs, Olesja Basina, Aleksejs Derovs // International Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”, April 1-3, 2019, Riga, Latvia : Abstracts Rīga : Rīga Stradiņš University, 2019.
 14. The comparison of side effects of standard triple therapy and high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / **O. Sjomina**, A. Lielausa, A. Rūdule, E. Martinsone, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, H. Gorskis, I. Poļaka, A. Jeniceka, E. Cine, G. Šķenders, D. Razuka-Ebela, M. Leja // *Helicobacter* Vol. 24, S1: The Year in *Helicobacter* : 32nd International Workshop on *Helicobacter* & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019 (2019), Meeting Abstract: P1.19.
 15. The comparison of effectiveness of standard triple therapy and high-dose amoxicillin/bismuth therapy in eradication of *H. pylori* / **O. Sjomina**, A. Lielausa, A. Rūdule, E. Martinsone, D. Pūpola, R. Vangravs, A. Kiršners, S. Paršutins, H. Gorskis, I. Poļaka, A. Jeniceka, E. Cine, G. Šķenders, D. Razuka-Ebela, M. Leja // *Helicobacter* Vol. 24, S1: The Year in *Helicobacter* : 32nd International Workshop on *Helicobacter* & Microbiota in Inflammation & Cancer, Innsbruck, Austria, 5–7 September 2019 (2019), Meeting Abstract: W3.3.
 16. Precancerous lesions surveillance and *H. pylori* infection prevalence changes / Z. Dzērve, I. Kikuste, **O. Sjomina**, I. Tolmanis, A. Kirsners, A. Vanags, I. Gulbe, D. Stirna, S. Isajevs, I. Bogdanova, M. Leja. (Poster Round P07 Gastric Cancer and Cancerogenesis) // *Helicobacter: 31st International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer (EHMSG)*; September 14-15, 2018, Kaunas, Lithuania Vol. 23, Suppl.: 1, SI (2018), Meeting Abstract: P07.30, p. 86.
 17. Association between Pepsinogen Level and *H. Pylori* Status: a Population-based Study / **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Ilva Daugule, Pavel Janovic, Alina Ivanova, Alise Lielausa, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pahomova, Vilnis Dzerve, Lilian Tzivian, Andrejs Erglis, Marcis Leja. (Gastroenterology, Gastrointestinal Microbiota & *H.pylori* Endorsed by European *Helicobacter* and Microbiota Study Group (EHMSG)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018 : Book of Abstracts Riga : University of Latvia, 2018 P. 49-50.

18. Epidemiology of Gastric Cancer in Latvian Population / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018 : Book of Abstracts Riga : University of Latvia, 2018 P. 57.
19. Characteristics of Epstein-Barr Virus-positive Gastric Cancer in Latvia / Evita Gasenko, Sergejs Isajevs, M. Constanza Camargo, G. Johan Offerhaus, Inese Polaka, Margaret L. Gulley, Roberts Skapars, Armands Sivins, Ilona Kojalo, Arnis Kirsners, Daiga Santare, Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Elina Liepina, Liliana Tzivian, Charles S. Rabkin, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018: Book of Abstracts Riga: University of Latvia, 2018 P. 61.
20. GastroPanel Results in Caucasian Patients with Gastric Cancer / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Armands Sivins, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Gastroenterology & Gastrointestinal Oncology Endorsed by European Society of Digestive Oncology (ESDO)) // 76th International Scientific Conference on Medicine of the University of Latvia, February 23, 2018.
21. GastroPanel performance in Caucasian patients with gastric cancer / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Evita Gasenko, Guntis Ancans, Armands Sivins, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Lilian Tzivian, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Marcis Leja. (Poster) // Helicobacter: 30th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer; France, Bordeaux, September 7-9, 2017 Vol. 22, Suppl.: 1, SI (2017), Meeting Abstract: P04.35, 1 p.: tab., fig. doi: 10.13140/RG.2.2.35070.08003.
22. Characteristics of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer in Latvia / E. Gasenko, S. Isajevs, M. C. Camargo, I. Polaka, G. J. A. Offerhaus, M. Gulley, I. Kojalo, A. Kirsners, J. Pavlova, **O. Sjomina**, E. Liepina, L. Tzivian, C. S. Rabkin, M. Leja. (Poster). References: p. 1 // Helicobacter: 30th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer; France, Bordeaux, September 7-9, 2017 Vol. 22, Suppl.: 1, SI (2017), Meeting Abstract: P04.23, 1 p. : fig., tab. doi: 10.13140/RG.2.2.34231.21929.
23. Dynamics of pepsinogen values in an average-risk Caucasian population within a median 3.5 year follow-up period / J. Pavlova, **O. Sjomina**,

- I. Kikuste, A. Vanags, D. Rudzite, I. Polaka, I. Kojalo, I. Liepniece-Karele, S. Isajevs, D. Santare, V. Pirags, J. Pahomova, V. Dzerve, A. Erglis, M. Leja ... [et al.] // *Helicobacter* : 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer; Magdeburg, Germany, 15-17 september, 2016 Vol. 21, Suppl. 1, SI (2016), Meeting Abstract: P04.17, p. 123. doi: 10.1111/hel.12344.
24. Is pepsinogen screening in general Caucasian population justified: results from a cross-sectional population study in Latvia / I. Kojalo, **O. Sjomina**, J. Pavlova, I. Kikuste, A. Vanags, I. Poļaka, I. Liepniece-Karele, S. Isajevs, D. Šantare, D. Rudzīte ... [et al.] // *Helicobacter* : 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer; Magdeburg, Germany, 15-17 september, 2016 Vol. 21, Suppl. 1, SI (2016), Meeting Abstract: W5.6, p. 89. doi: 10.1111/hel.12344
25. Dynamics of pepsinogen values in an average and high-risk Caucasian population within a median 3.5 year follow-up period / Jelizaveta Pavlova, **Olga Sjomina**, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pahomova, Vilnis Dzerve, Andrejs Erglis, Marcis Leja ... [et al.]. References: p.123 // *Helicobacter* : EHMSG 29th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer Magdeburg : European Helicobacter & Microbiota Study Group, 2016. Vol. 21, Suppl.: 1, Special N:SI (2016), Meeting Abstract: P04.17, p. 123. ISSN 1083-4389.
26. Yield of pepsinogen testing in a general population sample of caucasian origin / **Olga Sjomina**, Jelizaveta Pavlova, Pavels Janovics, Ilze Kikuste, Aigars Vanags, Ivars Tolmanis, Dace Rudzite, Inese Polaka, Ilona Kojalo, Inta Liepniece-Karele, Sergejs Isajevs, Daiga Santare, Valdis Pirags, Jelena Pohomova, Vilnis Dzerve, Andrejs Erglis, Marcis Leja // *UEGW: 24th United European Gastroenterology Week Volume 4, Suppl. 1 (2016)*, p. 696.

Other scientific activities

1. Chair of the University of Latvia Doctoral School “Doctoral School in Translational Medicine,” 2016–2019.
2. Organization of the Medical Section of the 75th Scientific Conference of the University of Latvia (February 24, 2017) and compilation of the abstract book.

LITERATURE REVIEW

Overview of the history of *H. pylori* treatment

Over the past fifty years, stomach cancer rates have generally declined in most populations, a trend largely attributed to the decrease in non-cardia gastric cancer. This decline is thought to result from improved food preservation and storage practices, as well as a reduction in *H. pylori* infections [7]. However, according to the latest data and projections from the GLOBOCAN 2022 report, the number of global cancer cases is anticipated to increase to 35 million by 2050 – of these, approximately 1.9 million will be new cases of stomach cancer. Particularly in Europe, the incidence of stomach cancer in absolute numbers is projected to increase by 28.4% by 2050. Mortality rates are expected to rise by more than a third, with an increase of 34.5% [7].

An extensive meta-analysis was recently published, which screened 16,976 articles and included information on 6,270,520 participants eligible for analysis. This comprehensive meta-analysis examined adult and pediatric patients from 111 countries. Yi-Chu Chen et al. investigated *H. pylori* infection's global prevalence and gastric cancer incidence between 1980 and 2022 [38]. According to the authors, the global prevalence of *H. pylori* in the adult population has decreased from 53% before 1990 to 44% (2015 – 2022). However, the prevalence among children and adolescents remained significantly high at 35% during the same period [38]. The author emphasized that globally, as well as in specific countries where a decrease in the prevalence of *H. pylori* has been observed, there is also a consistent decline in the incidence of gastric cancer. Earlier studies also state that a reduction in *H. pylori* prevalence, along with the progress in food storage and hygiene over recent decades, has led to a decline in gastric cancer incidence rates [39].

Management of *H. pylori* infection

The discovery of *H. pylori* by Marshall and Warren in 1982 made a significant breakthrough in understanding the pathogenesis of gastrointestinal diseases [40]. Later, the bacterium was renamed from *Campylobacter pylori* to *Helicobacter pylori* in 1989, and by 1990, other *Helicobacter* species were discovered in human pathologies. That same year, the first clinical trial confirmed that *H. pylori* eradication could cure duodenal ulcers. In 1991, it was established epidemiologically, that *H. pylori* is a risk factor for gastric cancer. This led to the foundation of the Sydney System for classifying gastritis [41, 42].

These findings became the basis for the experimental *H. pylori* vaccine research and the discovery that gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma could be cured through *H. pylori* eradication. Due to this discovery, the World Health Organization (WHO) in 1994 declared *H. pylori* a Class I carcinogen [43].

By 1996, the Sydney system for gastritis classification had been updated, and the Maastricht I Consensus Report introduced international management guidelines, including a seven-day triple therapy for *H. pylori*. In 1999, PPI (proton pump inhibitor)-based triple therapy demonstrated high efficacy in clinical trials, becoming the global standard for treating peptic ulcer disease. However, from 2000 onwards, increasing antibiotic resistance in *H. pylori* against clarithromycin and levofloxacin led to the adoption of quadruple therapies as alternatives [41].

In 2008, the OLGA system (Operative Link on Gastritis Assessment), and later the OLIGIM system (Operative Link on Gastritis/Intestinal-Metaplasia Assessment) in 2010, were introduced to predict gastric cancer risk through the histological staging of gastritis [44]. The same year, bismuth quadruple therapy became the first-line option in regions with high clarithromycin resistance, and the duration of PPI-based triple treatment was extended to 14 days. Further, the Maastricht IV/Florence Consensus Report presented the updates and new strategies for managing *H. pylori* infection [45].

By 2012, the MAPS guidelines (Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach) were published for the surveillance of precancerous gastric lesions and early gastric cancer [46]. In 2015, the Kyoto Consensus defined *H. pylori*-associated gastritis as an infectious disease, and the Maastricht V/Florence Consensus Report recommended eradication therapy for all individuals with *H. pylori* infection, even if asymptomatic, to prevent infection-related diseases [1, 8].

In 2016, potassium-competitive acid blockers (P-CAB) emerged as more effective alternatives to PPIs in dual and triple therapy, initially available in Japan [47]. By 2019, the Taipei consensus on screen-and-treat strategies for gastric cancer prevention recommended offering eradication therapy to all individuals infected with *H. pylori*, particularly in high-risk populations. For those with a higher risk of gastric cancer, such as first-degree relatives of gastric cancer patients, a screen-and-treat strategy is considered the most beneficial. In summary, the screening and treatment of *H. pylori* infection are most cost-effective in young adults from regions with a high incidence of gastric cancer. Additionally, the use of locally effective treatment regimens according to local antibiotic stewardship was recommended [48]. In the same year, MAPS guidelines were updated to MAPS II. The updated guidelines placed a stronger emphasis on the eradication of *H. pylori* in all patients with gastric atrophy or

intestinal metaplasia to prevent progression to gastric cancer, irrespective of whether they are symptomatic or asymptomatic [49].

Most recently, in 2021, the Maastricht VI/Florence Consensus Report emphasized the critical role of antibiotic stewardship, advising against the use of regimens with high resistance-related failure rates, considering local antibiotic resistance patterns, patient characteristics, and the importance of confirming eradication. The use of probiotics as an adjunct to antibiotic therapy was also discussed, with evidence supporting their role in reducing side effects like antibiotic-associated diarrhoea, although they are still not recommended as a primary treatment [12, 41].

Overview of the studied eradication regimens

H. pylori remains unique among other major infections in that the principles of antimicrobial stewardship have not developed its antimicrobial therapy [50]. Typically, antimicrobial therapies are guided by susceptibility testing, aim for high cure rates, and are supported by surveillance programs with regular updates on resistance and outcomes. In contrast, current *H. pylori* treatments have largely been established through trial-and-error approach, with recommendations and guidelines often based on regimen comparisons [50].

Different regimens have been developed, including triple therapies that combine a PPI with amoxicillin and clarithromycin, metronidazole, a fluoroquinolone, or rifabutin; bismuth quadruple therapy; and dual therapy consisting of a PPI and amoxicillin. Additionally, various four-drug regimens, such as sequential, concomitant, hybrid, and reverse hybrid therapies, including PPI, amoxicillin, clarithromycin, and metronidazole, were introduced. The recent new drug class P-CAB raised interest in these therapies, as its strong acid suppression has been shown to increase the efficacy of amoxicillin-containing regimens [51].

According to the latest data from the European Registry on *Helicobacter pylori* management (Hp-EuReg) from 2024, resistance to clarithromycin, levofloxacin, and metronidazole in Europe is already higher than 15%. Resistance to antibiotics was most commonly observed with metronidazole (31%), while resistance to amoxicillin and tetracyclines was the least frequent [52]. Maastricht VI/Florence consensus group recommends performing susceptibility tests, either molecular or culture-based, before prescribing first-line treatment in alignment with antibiotic stewardship principles. However, the widespread susceptibility-guided approach still has not been fully adopted. In that situation, in areas of high (> 15%) or unknown clarithromycin resistance and susceptibility testing is not available, bismuth quadruple or non-bismuth concomitant quadruple therapy should be considered [12].

Standard triple therapy

By 2000, the effectiveness of triple therapy, which combines a PPI with two antibiotics, typically amoxicillin and clarithromycin, had diminished. However, it remains one of the most commonly used first-line regimens globally, even though its cure rates have fallen below 80% [51]. According to the Hp-EuReg, which analyzed over 20 thousand first-line empirical *H. pylori* treatments, the standard clarithromycin-based triple regimen was the most commonly prescribed, used by 39% of patients. The overall cure rate was low – 82.7% for 7-day, 84.2% for 10-day, and 86.2% for 14-day therapy [9]. According to the latest data, in naive patients, 22% had clarithromycin resistance, and among these, eradication rates dropped to 75% with standard clarithromycin-triple regimen [52, 53],

Globally, there are few areas left with low clarithromycin resistance, and due to widespread resistance, the empirical use of triple therapies containing clarithromycin, metronidazole, or fluoroquinolones is generally discouraged. In regions with low clarithromycin resistance and locally confirmed effectiveness, the standard PPI-clarithromycin regimen may still be recommended as first-line therapy [12].

Previously clarithromycin resistance was below 5% in most countries. Unfortunately, it is becoming increasingly common worldwide – due to its widespread use in otorhinolaryngology, respiratory infections, paediatrics, and other medical areas. The resistance is associated with the modifications of the efflux pump system [10, 54].

The use of clarithromycin is associated with significant side effects, with adverse events reported in up to 86% of cases, primarily involving gastrointestinal issues, such as nausea, vomiting, diarrhoea, and abdominal discomfort [54]. Additionally, as a known inhibitor of the cytochrome P450 (CYP) 3A4 enzyme, clarithromycin can alter the pharmacokinetics of other medications, potentially leading to hepatotoxicity.

High-dose PPI-amoxicillin dual therapy

In many regions, resistance to clarithromycin and metronidazole exceeded 15%, reducing the efficacy of standard triple regimens. As a result, alternative treatments like bismuth quadruple therapy, non-bismuth quadruple therapy (non-BQT or concomitant therapy), and sequential therapy have been introduced [55]. While effective for eradication, these treatment regimens often cause a wide range of side effects due to the increased number of antibiotics, reducing patient compliance.

Another serious concern about using the mentioned regimens is the potential development of *H. pylori* multidrug resistance (MDR). Triple, quadruple, and

quintuple MDR have been identified, and even sextuple MDR reported in China. This highlights the urgent need for stricter control over antibiotic use [56].

Amoxicillin resistance rates in the United States and Europe remain low (less than 1%) [52, 53]. PPI-amoxicillin dual therapy at standard doses showed unacceptable efficacy, but higher eradication rates were achieved with increased doses and frequency of PPI and amoxicillin [55, 57]. Some studies showed that the efficacy of high-dose PPI-amoxicillin dual therapy was even higher when compared to the bismuth-quadruple regimen [58]. A recent meta-analysis by Zhu et al. aimed to evaluate the effectiveness and safety of high-dose PPI-amoxicillin in treating *H. pylori* infection compared to other regimens. It included 15 trials with a total of 3,818 patients. The effectiveness matched that of first-line treatments but had fewer side effects [55].

The relatively lower incidence and intensity of side effects are proved by other studies as well. For instance, research shows that amoxicillin has a lower risk of antibiotic-associated diarrhoea [59].

Role of the bismuth in *H. pylori* eradication

Bismuth subsalicylate serves multiple functions: it acts as an antacid, antidiarrheal, anti-inflammatory, and bactericidal agent. In the stomach, bismuth subsalicylate breaks down into salicylate and bismuth. The bismuth is only minimally absorbed, allowing it to exert its bactericidal effects. Throughout the digestive tract, bismuth helps reduce inflammation [54]. It is supposed that incorporating bismuth into the treatment regimen, especially in conjunction with a dual therapy approach, could potentially enhance therapeutic efficacy. Under this strategy, a single antibiotic with minimal resistance can be used, which is expected to reduce both the risk of adverse events and the likelihood of non-compliance.

Role of probiotics in eradication of *H. pylori*

The Maastricht VI/Florence consensus indicated that certain probiotics have been found effective in reducing gastrointestinal side effects associated with *H. pylori* eradication therapies. [12]. Earlier studies have demonstrated that probiotics, particularly *S. boulardii*, exhibit anti-*H. pylori* activity in vitro and in animal models [60]. This yeast exhibits broad antimicrobial properties, not only inhibiting the growth of bacteria and parasites but also neutralizing bacterial virulence factors. It also has an antitoxin effect, aids in restoring normal gut microbiota, normalizes intestinal mucosal functions, and provides protective properties both in vivo and in vitro [61, 62]. Consequently, the efficacy of *S. boulardii* in reducing side effects, particularly abdominal pain, and antibiotic-associated diarrhoea, has been well-established in various studies [62-64].

A comprehensive meta-analysis by Szajewska et al., involving 915 subjects, indicated a notable increase in eradication rates (from 71% to 80%) and a significant reduction in adverse events, especially diarrhoea (from 24.3% to 12.9%) when *S. boulardii* was added to the standard regimen [63].

Lactobacilli is another probiotic that has been extensively studied in the context of *H. pylori* eradication. *Meta-analyses have generally shown that this genus can be effective in reducing the side effects associated with H. pylori antibiotic therapy, especially when the probiotic is administered for more than two weeks [12, 60].* Moreover, some studies have shown, that the adjuvant Lactobacillus supplementation to the eradication could improve the effectiveness [60]. *Bifidobacterium bifidum* in turn was effective in enhancing *H. pylori*-infected dyspeptic symptoms [65].

The results of a meta-analysis involving 34 randomized controlled trials with a total of 9,004 patients indicated that the regimens supplemented with probiotics had better outcomes than just a standard triple therapy alone. Specifically, *Bifidobacterium-Lactobacillus* and *Bifidobacterium-Lactobacillus-Saccharomyces* adjuvant therapies were associated with significant benefits, achieving high eradication rates (78.3% and 88.2%, respectively) and fewer side effects [66].

MATERIALS AND METHODS

The overall design

The randomized controlled clinical trial was conducted within an ongoing large population-based study – GISTAR (Multicentric randomized study of *Helicobacter pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality) [67] by inviting 40–64 years old subjects at enrolment from the general population to participate. The lists of healthy individuals were made available from the centralized patient registry or provided by general practitioners. All the subjects satisfying the mentioned requirements who agreed to participate were included.

Randomly allocated half of the study population was tested for *H. pylori* and assigned for eradication therapy if positive, while the other half allocated to the control group received routine care. Participants assigned to *H. pylori* eradication therapy were further randomized into one of the treatment arms. Subjects having reported previous *H. pylori* eradication were not enrolled.

H. pylori assessment

H. pylori status was determined by UBT, using 75 mg urea substrate. Measurements were taken with a FANhp ¹³C analyzer (Fischer ANALYSEN Instrumente GmbH, Germany). The UBT results, with delta over baseline (DOB) result of > 4, were considered positive, < 2.5 negative, and 2.5–4 taken as the grey area. Only *H. pylori*-positive patients were enrolled. Follow-up UBT was performed at 6 months (+/- 2 weeks) after completion of therapy to evaluate the efficacy of the eradication treatment.

Treatment arms

Trial 1. Participants assigned to *H. pylori* eradication therapy were randomized either to standard clarithromycin-based triple therapy (further “AMX/CLARI”) or a high-dose amoxicillin and bismuth therapy (further “AMX/BI”). AMX/CLARI group received clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg, and esomeprazole 40 mg, all BID, while the AMX/BI group received bismuth subcitrate 240 mg BID, amoxicillin 1000 mg TID and esomeprazole 40 mg BID. The duration of all treatments was 14 days. The control group received routine care and was not tested for *H. pylori*.

Both therapy regimens were given for 14 days, with the recommendation that they be taken 30 minutes before a meal.

Trial 2. Group 1 (10-day Standard Triple therapy without probiotics, hereafter ST10) and Group 2 (14-day Standard Triple therapy without probiotics, hereafter ST14) received clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg, and esomeprazole 40 mg, all BID for 10- or 14-days respectively, 30 minutes before a meal. Group 3 (10-day Standard Triple therapy with *S. boulardii* supplementation, hereafter ST10SB) and Group 4 (14-day Standard Triple therapy with *S. boulardii*, hereafter ST14SB) received clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg, and esomeprazole 40 mg, all BID, 30 minutes before a meal. Additionally, groups 3 and 4 received Enterol™ 250mg, and 2 capsules (*Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, total 500mg) twice daily, two hours after antibiotics during the eradication. The non-probiotic subgroups did not receive a placebo for the probiotic substitution.

Efficacy, adverse events, and compliance

Efficacy was assessed on the *intention-to-treat* among all who received medication and on a *per-protocol* basis. In *per-protocol* analysis, completeness of the therapy was considered if $\geq 90\%$ of the medication was used as recommended.

For the assessment of adverse events and compliance with the treatment, the subjects were contacted by telephone between 21 and 28 days after starting their eradication medication. Adverse event registration was based on the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) [68].

Follow-up evaluation of gut microbiota

The Trial 1 subjects were invited for the follow-up evaluation six months after the eradication group received the treatment, with an allowed deviation of up to one month. Stool samples for gut metagenome testing were collected from each study participant at the baseline and during the follow-up evaluation.

Sample processing and microbiota analysis

Sample collection tubes intended for the use of faecal immunochemical occult blood testing OC-Sensor from Eiken Chemical Co., Ltd (Tokyo, Japan) were used for sample collection, transporting and storage; our previous research has demonstrated the appropriateness of this method for metagenome testing [69]. All the returned sample tubes were immediately frozen at -80°C after performing a quantitative immunochemical faecal occult blood test, stored and transported frozen until further processing for microbiome analysis. Sample processing took place within 60 days from sampling.

Before the extraction, the total buffer content containing faecal material (~ 1,5 ml) was extracted from the sample bottles with a sterile, single-use syringe and concentrated by lyophilization. Afterwards, microbial DNA was extracted from a lyophilized sample using FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, USA) and FastPrep 24 5G instrument. Additionally, DNA was extracted from a negative control and microbial community and DNA standards (ZymoBIOMICS, USA). Sequencing was performed by MGI-Tech Latvia laboratories, where the extracted DNA was fragmented in approximately 400 bp fragments with Covaris S220 and a sequencing library prepared using MGIEasy PCR-Free DNA kit (MGI-tech, China) following the manufacturer's standard protocol. Library quality was checked with Agilent Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies, USA). Shotgun metagenomic sequencing was performed on the DNBSEQ-G400 platform (MGI, China) with 150bp paired-end reads.

The primary processing of the raw metagenomics sequencing data was done on high-performance computing clusters in Riga Technical University using in-house adaptation [70] of a general metagenomic analysis workflow – “StaG-mwc” [71]. Adapter removal and base quality trimming were done with fastp [72]. The host reads were removed with Kraken2 (version 2.1.1) [73] using the GRCh38 human reference genome. Taxonomic assignment was also carried out using Kraken2 against a database built from all available archaea, fungi, bacteria and protozoa full genomes (RefSeq release 180 2020-12-03). To improve taxonomic abundances they were reestimated with Bracken (version 2.6) [74]. ARG distributions and abundances were assessed with AmrPlusPlus (version 2.0) by mapping the raw filtered reads to the MEGARes (version 2.0) reference database [75].

Data analysis

Analysis was performed using R software environment (version 4.0.5.) functions and packages such as phyloseq, microbiome and vegan and visualized using ggplot. The obtained taxa were randomly subsampled with phyloseq at the genus level (rngseed = 1221983) to normalize for read depth. Genus abundance (Richness, Chao1), evenness (Shannon, Inv-Simpson) and beta diversity (Bray-curtis) were calculated from Kraken2 raw count data using the phyloseq package. The top 15 most common genera abundances were averaged across all samples within a group and plotted with the microbiome package and a heatmap of the 150 most abundant genera was generated using basic phyloseq accessor functions. The Wilcoxon ranked sum test was used to evaluate the statistical significance of alpha diversity measure differences among groups, and permutational multivariate ANOVA (PERMANOVA) was used for null hypothesis testing in beta diversity results.

To account for observed ARG read depth and gene length differences custom python-based scripts were used to normalize results [70]. Observed individual ARG counts were expressed as found genes per million reads while in the case of individual genes, the reads per kilobase of reads per million (RPKM) were calculated for every gene and sample, which were further aggregated into either ARG groups, classes or mechanisms.

$$RPKM = \frac{\text{Number of reads mapped to reference} \times 10^9}{\text{Number of reads in sample} \times \text{Reference length}}$$

After mapping the obtained sequencing reads against the MEGARes database the read counts of observed ARGs for all study participants were aggregated into their respective groups and labeled by most abundant ARG classes.

Mann-Whitney test was used to evaluate differences in resistance mechanisms between two time points in each group. For the comparison of efficacy and compliance, Pearson's chi-square test and Mann-Whitney U test of independent samples were used. Adverse events were evaluated using linear regression and Z score. P value < 0.05 was taken as significant.

In Trial 2, comparing four groups of patients led to a large number of variables. To prevent Type I error, a Bonferroni adjustment was applied to the variables. This adjustment entailed dividing the desired alpha level by the number of comparisons performed. Consequently, the significance threshold for individual tests was raised, establishing a stricter criterion for determining statistical significance.

Ethics

The GISTAR study was approved by the Ethics Committee of Riga East Clinical University Hospital (Main approval No. 14-A/13, approved on 03.10.2013 and supplement, addressing the probiotic sub-study No. 8-A/17, approved on 20.07.2017), the Latvian Central Medical Ethics Committee (No. 01.-29.1/11, approved on 09.12.2013) and IARC/WHO Ethics Committee (Protocol ID: 12-36). All subjects signed an informed consent form before enrolment.

RESULTS

Altogether, 983 patients with positive *H. pylori* UBT were enrolled in our studies. Subsequently, 579 subjects who tested positive for *H. pylori* were enrolled and treated in the Trial 1. Of these, 299 participants (52%) were assigned to AMX/CLARI, while 280 (48%) were placed in AMX/BI. The gender distribution included 40.2% male (233 out of 579) participants. The average age of the participants was 52 years, with a range from 40 to 64 years and a median age of 52. A demographic breakdown of the study participants is detailed in Table 1. Except for smoking habits, there were no statistically significant differences in the parameters between the two groups.

Table 1. Description of treatment subgroups AMX/CLARI and AMX/BI

	AMX/CLARI	AMX/BI	<i>p</i> -value
Medication was issued	299	280	
Men	112/299 (37.5%)	121/280 (43.2%)	0.16
Median age, years	52	52	
Median BMI kg/m ²	28.7	28.3	
Smoked daily for at least one year	94/299 (31.4%)	122/280 (43.6%)	0.003
Alcohol weekly for at least six months	74/299 (24.7%)	80/280 (28.6%)	0.29
Vegetarians	1/299 (0.3%)	2/280 (0.7%)	0.52
Available for interview	248/299 (82.9%)	235/280 (83.9%)	0.75
Did not start eradication regimen	17/299 (5.7%)	13/280 (4.6%)	0.57
Completed eradication regimen (> 90%)	224/299 (75.0%)	214/280 (76.4%)	0.67
UBT for eradication confirmation (<i>intention-to-treat</i> ; ≥ 90% medication)	164/299 (54.8%)	152/280 (54.3%)	0.89
UBT for eradication confirmation (<i>per-protocol</i> ; ≥ 90% medication)	164/224 (73.2%)	152/214 (71.0%)	0.61
UBT for eradication confirmation (< 90% medication)	8/299 (2.7%)	4/280 (1.4%)	0.29
Did not start eradication regimen, but came to follow-up UBT	3/299 (1.0%)	2/280 (0.7%)	0.70

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

UBT – Urea breath test

In this study, a total of 30 participants (17 from AMX/CLARI and 13 from AMX/BI) did not commence the *H. pylori* eradication treatment due to various reasons. These included illness before starting the therapy, reluctance or apprehension about taking the medication, or not providing a clear justification.

Out of the enrolled subjects, 483 (83.4%, 95% CI 80.1–86.4%) responded to the adverse events questionnaire between 21 and 28 days post-treatment initiation. Among these respondents, 328 individuals (56.6% of the total) attended the follow-up UBT to evaluate the success of *H. pylori* eradication. Additionally, 316 participants (54.7% of the total), who used at least 90% of the prescribed therapy, were included in the *per-protocol*-based assessment of the treatment's efficacy.

In Trial 2, we focused on examining the effects of probiotic *S. boulardii* supplementation. A total of 404 individuals who tested positive for *H. pylori* received the eradication treatment. Among these participants, 66.8% (270 out of 404) were female. The average age of this group was 53.6 years, with a median of 55.0 years and an age range of 40-64 years. The distribution of patients across different treatment groups was as follows: 77 patients (19.1%) in the ST10 group, 96 patients (23.8%) in the ST14 group, 113 patients (28.0%) in the ST10SB group, and 118 patients (29.2%) in the ST14SB group (Table 3). Each group's demographic and lifestyle parameters are represented in Table 2. There was no statistically significant difference between the groups.

Table 2. Description of treatment subgroups ST10, ST14, ST10SB, ST14SB

	ST10	ST14	ST10SB	ST14SB
Medications issued, n	77	96	113	118
Men, n (%)	28 (36.4%)	25 (27.1%)	38 (33.6%)	42 (35.6%)
Mean (median) age, years	53.8 (55)	53.1 (54)	53.7 (55)	53.9 (55)
Median BMI kg/m ²	28.5	27.8	27.7	27.3
Smoked daily for at least one year	29/77 (37.7%)	33/96 (34.4%)	50/113 (44.2%)	52/118 (44.1%)
Alcohol weekly for at least six months	31/77 (40.3%)	34/96 (35.4%)	35/113 (31.0%)	40/118 (33.9%)
Vegetarians	1/77 (1.3%)	–	–	1/118 (0.9%)
Available for interview	72/77 (93.5%)	94/96 (98.0%)	111/113 (98.2%)	114/118 (96.6%)
Did not start eradication regimen	5/72 (7.0%)	2/94 (2.0%)	2/111 (1.8%)	4/114 (3.5%)

	ST10	ST14	ST10SB	ST14SB
Completed regimen (≥ 90%)	69/72 (95.8%)	90/94 (95.7%)	110/111 (99.1%)	107/114 (93.9%)
UBT for eradication confirmation (<i>intention-to- treat</i>)	50/77 (64.9%)	69/96 (71.9%)	87/111 (78.4%)	78/114 (68.4%)
UBT for eradication confirmation (<i>per-protocol</i> ; ≥ 90% medication)	47/69 (68.1%)	66/69 (95.7%)	87/110 (79.1%)	73/107 (68.2%)
UBT for eradication confirmation (< 90% medication)	3/72 (4.2%)	3/94 (3.2%)	–	5/114 (4.4%)

ST10 – 10-day standard triple therapy

ST14 – 14-day standard triple therapy

ST10SB – 10-day standard triple therapy with S. boulardii supplementation

ST14SB – 14-day standard triple therapy with S. boulardii supplementation

UBT – Urea breath test

Among all participants who were allocated treatment in the Trial 2, 97.5% (391 out of 404, 95% CI 95.5–98.8%) completed the post-therapy survey and were interviewed regarding adverse events and their adherence to the treatment regimen.

In total, 13 subjects (comprising five from the ST10 group, two from ST14, two from ST10SB, and four from ST14SB) who underwent the interview did not commence their assigned eradication treatment. Various reasons were cited for this, such as hesitation or apprehension about taking the medication, or in some cases, no specific reason was provided.

Compliance

In Trial 1, a high level of compliance was observed among the study participants, with 90.3% (224 out of 248, 95% CI 85.9–93.7%) in AMX/CLARI and 91.1% (214 out of 235, 95% CI 86.7–94.4%) in AMX/BI adhering fully to the medication regimen. Additionally, 2.0% (5 out of 248) in AMX/CLARI and 1.3% (3 out of 235) in AMX/BI used over 90% of their medication.

In Trial 2, also a high overall compliance rate of 96.2% (376 out of 391, 95% CI 93.9–97.8) was reported by participants for following medication recommendations. Both non-probiotic and probiotic subgroups showed similar compliance, with 95.8% in non-probiotic (159 out of 166) and 96.4% in probiotic groups (217 out of 225). The ST10SB group had the highest compliance at 99.1%, while the 14-day regimens (ST14 and ST14SB) had slightly lower but comparable adherence rates.

Frequency of adverse events

In Trial 1, adverse events were reported by 57.0% of participants in AMX/CLARI (141 out of 248, 95% CI 50.4–63.1%) during standard eradication therapy, compared to 40.0% in AMX/BI (94 out of 235, 95% CI 33.7–46.6%; $p < 0.01$). The range and specifics of these events varied between the groups (as listed in Table 3).

Table 3. The comparison of adverse effects of eradication therapies in Trial 1

	AMX/CLARI % (n/total)	AMX/BI % (n/total)	<i>p</i> -value
Diarrhea	21 (58/248)	13 (23/235)	< 0.01
Bitter taste in the mouth	36 (97/248)	5 (9/235)	< 0.01
Stool color change	3 (7/248)	31 (55/235)	< 0.01
Bloating	5 (13/248)	3 (7/235)	0.21
Nausea	9 (25/248)	6 (14/235)	0.10
Abdominal pain	5 (13/248)	7 (17/235)	0.37
Fatigue	8 (19/248)	3 (7/235)	0.02
Vomiting	3 (7/248)	0.4 (1/235)	0.04
Skin rash	2.2 (6/248)	3.4 (6/235)	0.92

*AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy,
AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin*

The most common effects in AMX/CLARI included a bitter taste, nausea, fatigue, abdominal pain, and bloating, while AMX/BI reported changes in stool colour, diarrhoea, abdominal pain, and nausea. The average number of adverse effects per subject was 2, consistent across both treatment groups. AMX/CLARI also reported less common effects like tongue irritation and dry mouth, whereas AMX/BI experienced issues such as constipation, blue patches on lower legs, and headaches, among others.

In Trial 2, data about the frequency of adverse events was available from 391 participants, 31.7% reported experiencing at least one adverse event. The average number of adverse events pro person was slightly higher in 14-day regimens (0.51) compared to 10-day regimens (0.39). Participants on the 14-day regimens tended to report more events, averaging 1.42 incidents, compared to 1.17 in the 10-day regimen.

When comparing groups with and without probiotic supplementation, those not receiving probiotics had a slightly higher average of adverse events (0.53 vs. 0.39), but this difference was not statistically significant. No significant

differences were found in the mean number of events between individuals reporting at least one adverse event, regardless of probiotic use.

The study also found that diarrhoea was more commonly reported in the 14-day regimens, with a lower occurrence in participants who received probiotics alongside the 14-day treatment (Table 4). However, after applying the Bonferroni adjustment to compare the frequencies of side effects among the groups, the corrected required *p*-value was found to be less than 0.0015.

Table 4. Comparison of adverse events in eradication subgroups

	ST10 %(n)	ST10SB %(n)	<i>p</i> -value	ST14 %(n)	ST14SB %(n)	<i>p</i> -value	10 days vs. 14 days (<i>p</i> -value)
Available for interview	72	111		94	114		
The mean number of adverse events reported	0.36	0.40	0.71	0.65	0.38	0.03	0.14
Diarrhea	8.3% (6)	9.9% (11)	0.72	21.3% (20)	10.5% (12)	0.03	0.05
Nausea	4.2% (3)	3.6% (4)	0.85	9.6% (9)	7.0% (8)	0.50	0.07
Vomiting	0	0	–	1.1% (1)	0.9% (1)	0.89	0.18
Bitter taste	8.3% (6)	13.5% (15)	0.26	16.0% (15)	11.4% (13)	0.34	0.56
Heartburn	0	1.8% (2)	0.25	0	0	–	0.13
Abdominal pain	6.9% (5)	2.7% (3)	0.17	2.1% (2)	6.1% (7)	0.16	0.98
Bloating	1.39% (1)	2.7% (3)	0.56	2.1% (2)	0.9% (1)	0.45	0.58
Skin rash	1.39% (1)	0.9% (1)	0.76	1.1% (1)	0.9% (1)	0.89	0.99
Itching	1.39% (1)	0	0.21	0	2.6% (3)	0.11	0.13

ST10 – 10-day standard triple therapy

ST14 – 14-day standard triple therapy

ST10SB – 10-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

ST14SB – 14-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

Efficacy of the eradication regimens

In Trial 1, follow-up UBT conducted six months post-treatment was available for 332 subjects, with 174 in AMX/CLARI and 158 in AMX/BI. The per-protocol analysis revealed a significantly higher efficacy in AMX/CLARI at 88.4% (145 out of 164, 95% CI 82.5–92.3%) compared to 77.0% in AMX/BI (117 out of 152, 95% CI 69.5–83.4%; $p < 0.001$). The intention-to-treat analysis showed a higher efficacy trend in AMX/CLARI compared to AMX/BI, but without a statistically significant difference (AMX/CLARI: 48.5%, AMX/BI: 41.8%; $p = 0.105$).

In Trial 2, 70.3% of participants (284 out of 404) completed the follow-up UBT. Of these, 67.6% (273 participants) adhered to the medication regimen and were included in the per-protocol analysis. Two subjects were excluded due to inconclusive UBT results. However, 29.7% of participants (120 respondents) did not attend the confirmatory UBT for various reasons. A successful *H. pylori* eradication was achieved in 88.2% of the per-protocol group and 61.4% in the intention-to-treat group. In the intention-to-treat analysis, the 10-day treatment with *S. boulardii* supplementation (ST10SB) showed higher eradication rates (70.8%) compared to the same duration without the probiotic (54.6% in ST10). Further subgroup comparisons are detailed in Table 5.

Table 5. Intention-to-treat eradication efficacy among treatment subgroups

		ST10	ST14
	Successful eradication % (95%CI)	42/77 54.6% (42.8–66.0)	59/96 61.5% (51.0–71.2)
ST10SB	80/113 70.8% (61.5–79.0)	$p = 0.02$	$p = 0.15$
ST14SB	66/118 55.9% (46.5–65.1)	$p = 0.85$	$p = 0.41$

ST10 – 10-day standard triple therapy

ST14 – 14-day standard triple therapy

ST10SB – 10-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

ST14SB – 14-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

After applying the Bonferroni adjustment for efficacy testing in the intention-to-treat group, the corrected required p -value (p -corrected) was found to be < 0.01 , which indicates a lack of significance in the difference between the tests.

In the per-protocol analysis, a 90.6% eradication rate (144 out of 159, 95% CI 84.9–94.6%) was noted in the subgroups receiving *S. boulardii* supplementation, compared to an 85.0% success rate (96 out of 113, 95% CI 77.0–91.0%) in participants who did not receive probiotics ($p = 0.183$). This trend was consistent across all subgroups in the per-protocol analysis, as detailed in Table 6. Similarly to the previous calculation, the p -corrected was < 0.01 .

Table 6. Efficacy of eradication in the per-protocol analysis

		ST10	ST14
	Successful eradication % (95%CI)	39/47 83.0% (69.2–92.4)	57/66 86.4% (75.7–93.6)
ST10SB	80/87 92.0% (84.1–96.7)	$p = 0.15$	$p = 0.30$
ST14SB	64/72 88.9% (79.3–95.1)	$p = 0.42$	$p = 0.80$

ST10 – 10-day standard triple therapy

ST14 – 14-day standard triple therapy

ST10SB – 10-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

ST14SB – 14-day standard triple therapy with *S. boulardii* supplementation

Follow-up evaluation of gut microbiota (Trial 1)

At present, the next phase of the study has only been conducted within the scope of Trial 1. Stool samples were available from altogether 158 subjects; of those 27 received AMX/BI and 31 received AMX/CLARI. An additional 50 subjects were included from the control group. The control group did not receive any intervention within the study.

The mean time interval before the second sampling was 215 days with a standard deviation of 30.0 days, and a median – of 205 days, range of 172–255 days.

The median age of participants was 51 years, range 40–64 years. Of them, 41.7% (n = 45) were men; the median BMI was 28.7 kg/m². There was no difference in participants' characteristics between the AMX/CLARI, AMX/BI, and control groups (Table 7).

Table 7. Description of the analysed cohort

	AMX/CLARI, n = 31	AMX/BI, n = 27	Control, n = 50	p-value
Males/females, n (%)	12 (38.7%)/ 19 (61.3%)	12 (44.4%)/ 15 (55.6%)	21 (42.0%)/ 29 (58.0%)	0.66
Median age, years	52	48	51	
Median BMI kg/m ²	30.1	29.6	28.1	0.21
Smoked daily for at least one year	9 (29.0%)	10 (37.0%)	15 (30.0%)	0.52
Vegetarians	1 (3.2%)	1 (3.7%)	2 (4.0%)	0.92

Control – samples from respondents who did not undergo eradication

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

Overall microbial community overview in Trial 1

After quality filtering, trimming (mean quality score of 30 and above 50 bp read length), and host sequence removal, a total of 10.3 billion high-quality paired-end reads were obtained. After rarefaction, a total of 2789 genus-level taxa were identified in the gut microbiome of respondents containing both bacteria (90.4%) and eukaryotes (9.6%). The core microbiome consisted of 317 genera (genus-level taxa detected in at least 75% of the dataset). Samples contained on average 35.2 M ± 12.8 M reads with a range of 19.63–201.35 M reads, while the negative control contained less than 67 thousand reads. The microbial mock community control samples contained a total of 91.1 M reads and matched the expected mock composition in the DNA standard while the microbial standard revealed a possible bias in the extraction procedure towards gram-negative bacteria.

Panel A (Figure 3a) shows the top 150 most abundant genera for each treatment group and time point, depicted in a heatmap. Samples are depicted on the x-axis while on the y-axis – genus-level taxa. The relative abundance of the top 15 bacterial genera aggregated by treatment group and time point is demonstrated in Panel B. The kraken2-based taxonomic assignment approach did not reveal a noticeable shift pattern of the 150 most abundant genera among the therapy groups (Figure 3a, Panel A), also the top 15 most abundant genera did not differ significantly among the therapy groups (Figure 3a, Panel B; Figure 3b).

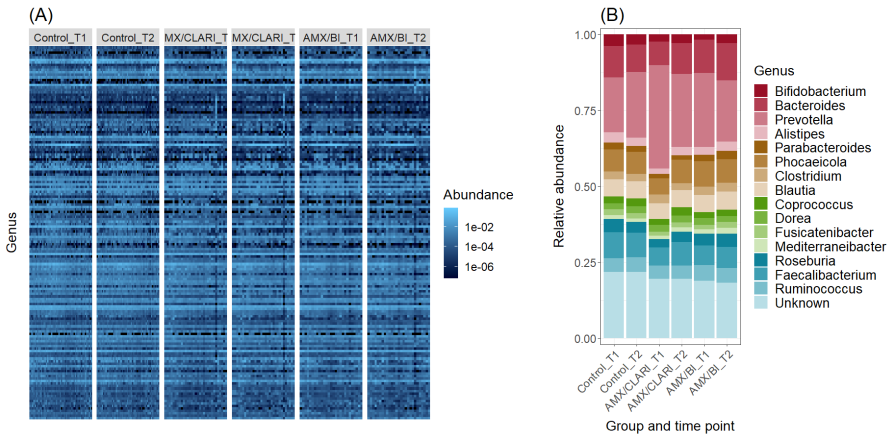


Figure 3a. Most abundant genera

Panel A: top 150 most abundant genera for each treatment group and time point

Panel B: relative abundances of top 15 bacterial genera by treatment group and time point

Control – control group

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 – baseline, T2 – follow-up

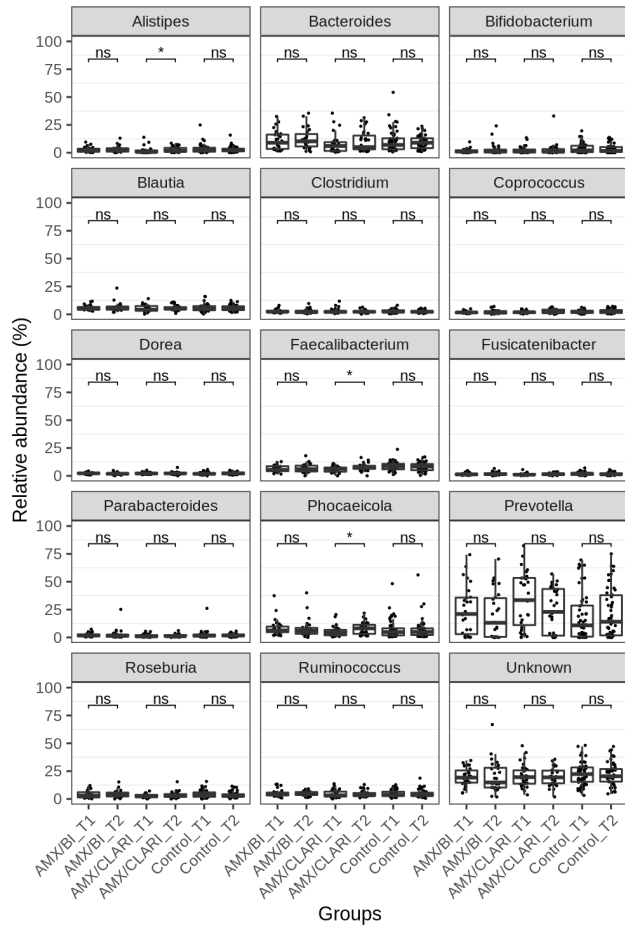


Figure 3b. Wilcoxon Signed rank test for the evaluation of the differences in observed top 15 taxa relative abundances

Control – samples from respondents who did not undergo eradication

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 and T2 – time points before and six months after therapy

ns – difference not significant ($p > 0.05$)

Alpha diversity measures for each of the treatment types and time points are reflected in Panel A (Figure 4). Panel B (Figure 4) shows the beta diversity of bacterial communities between the treatment groups. Consistent with the findings of other studies investigating the effect of eradication therapies on gut microbiota, our analysis of microbial alpha diversity found the gut

microbial diversity to be similar in both pre-and post-eradication time points. No significant difference in alpha diversities for any of the groups was observed between the initial (T1) and the follow-up (T2) samples. Analysis of the inter-treatment group beta diversity based on principal coordinate and PERMANOVA analysis also revealed that neither different treatments nor time points were the main drivers for the observed microbiome variance among individual samples ($p > 0.05$) (Figure 4, Panel B).

The difference among alpha diversities in the three groups at the second sampling point was evaluated where slightly significant differences were observed only among richness estimates.

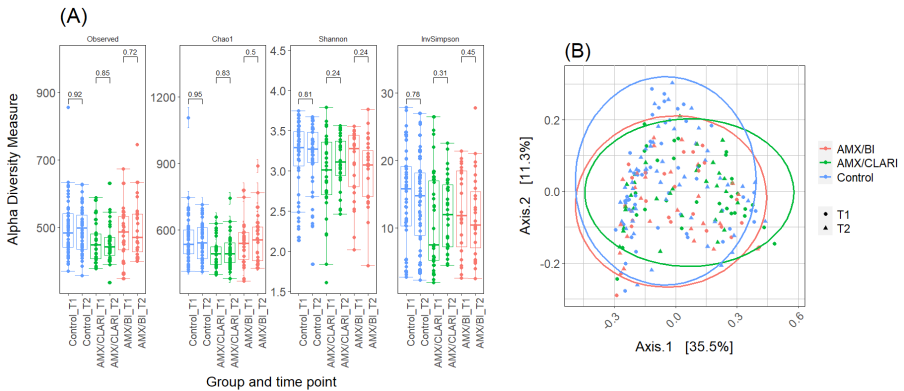


Figure 4. Alpha and beta diversities

Panel A: alpha diversity measures for each treatment type and time point, expressed as species richness
 Panel B: beta diversity of bacterial communities between the treatment groups

Control – control group

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 – baseline, T2 – follow-up

Differences in ARGs between the two therapy regimens and controls

The average percentage of quality filtered reads was 0.98% and 1.03% for the Control group (before and after), 1.20% and 1.00% for the AMX/CLARI group, and 0.90% and 0.98% for AMX/BI respectively. Evaluating the differences in observed ARG counts per million in both time points (Figure 5, Panel C), we observed a statistically significant difference ($p = 0.05$) only in the AMX/CLARI group (Table 9).

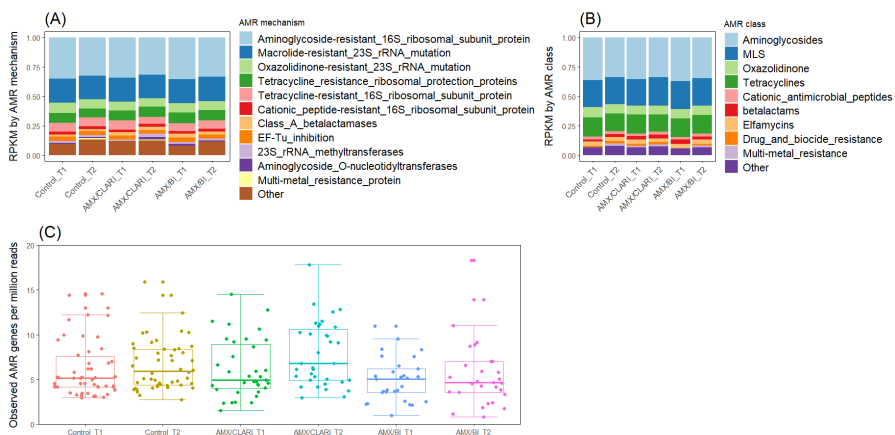


Figure 5. Relative abundance of observed antimicrobial resistance gene (ARG) reads for all study participants aggregated into their respective groups and labelled by most abundant ARG classes

Panel A: most abundant AMR (antimicrobial resistance) mechanisms expressed in RPKM and aggregated into treatment and sampling groups

Panel B: most abundant AMR gene classes expressed in RPKM and aggregated into treatment and sampling groups

Panel C: the number of observed ARGs for each sample expressed in the number of genes per million reads and aggregated into treatment and sampling groups

Control – control group

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 – baseline, T2 – follow-up

Table 9. Wilcoxon Signed rank test for the evaluation of the differences in observed antimicrobial resistance gene counts per million in both time points

	AMX/CLARI	AMX/BI	Control
Difference in gene sum per sample T1 vs T2	$p = 0.19$	$p = 0.66$	$p = 0.61$
Difference in gene sum per sample per million reads T1 vs T2	$p = 0.05$	$p = 0.54$	$p = 0.20$

Control – samples from respondents who did not undergo eradication

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 and T2 – time points before and six months after therapy

Characterization of resistance gene mechanisms

Further, we compared the resistance mechanisms and classes at both time points. We did not observe any difference in mechanisms in the AMX/BI group; however, AMX/CLARI showed a wide spectrum of significant changes six months after eradication therapy (Table 10).

Table 10. Comparison of resistance mechanisms before and after therapy

Mechanism	AMX/BI			AMX/CLARI			Control		
	T1	T2	p-value	T1	T2	p-value	T1	T2	p-value
23S rRNA methyltransferases	89.77	90.00	0.869	81.90	162.58	< 0.001*	75.06	80.47	0.704
Aminoglycoside O-nucleotidyltransferase	73.04	51.00	0.088	57.23	115.48	0.009*	56.06	59.36	0.938
Copper resistance regulator	6.67	4.67	0.498	3.73	14.09	0.031*	10.23	15.23	0.307
Drug and biocide MATE efflux pumps	6.37	10.11	0.313	4.18	9.64	0.001*	7.43	9.08	0.987
Fluoroquinolone-resistant DNA topoisomerase	12.10	14.90	0.953	8.53	16.88	0.048*	10.16	17.19	0.724
Lipid A modification	7.00	4.43	0.933	2.88	8.69	0.035*	7.61	11.17	0.394
MLS resistance MFS efflux pumps	29.36	22.60	0.726	14.52	19.28	0.012*	20.11	30.22	0.125
Sodium resistance protein	6.80	3.40	0.588	2.67	13.17	0.046*	11.90	14.50	0.953
Streptothricin acetyltransferase	14.53	8.87	0.682	8.43	22.86	0.034*	11.71	14.42	0.829
Zinc resistance protein	6.29	4.71	0.752	2.89	12.11	0.035*	12.09	17.36	0.575
Zinc resistance regulator	11.40	6.40	0.893	3.89	15.33	0.038*	13.54	12.54	0.575

AMX/BI – high-dose amoxicillin/bismuth therapy

AMX/CLARI – standard triple therapy with clarithromycin

T1 and T2 – time points before and six months after therapy

DISCUSSION

H. pylori eradication is being recommended in healthy population settings for gastric cancer prevention. However, the therapy needs to be acceptable to the target population, including the spectra of adverse effects, and as harmless as possible. Here, we are addressing the potential differences between different eradication regimens related to their efficacy, frequency of adverse events, as well as a potency to induce and maintain resistant gut bacteria six months following the therapy.

This investigation likely constitutes the initial foray into assessing the efficacy of high-dose amoxicillin in tandem with bismuth as a primary treatment for *H. pylori* eradication within a Caucasian cohort. Although the therapeutic outcomes did not reach the thresholds typically recommended for clinical adoption, the results were nevertheless promising, particularly in terms of reduced adverse effects when contrasted with the conventional clarithromycin-inclusive triple therapy.

In Asian populations, high-dose amoxicillin therapies have been implemented as first-line treatments with considerable success, as evidenced by *H. pylori* eradication rates exceeding 90% [55, 76, 77]. Based on information gathered from multiple research studies on alternative *H. pylori* eradication methods, we expected that using a bismuth-based, high-dose amoxicillin treatment in our study would lead to an increased rate of eradication [77–79]. Notably, Yu et al. reported a remarkable eradication rate of 93.3% after using high-dose amoxicillin in combination with bismuth subcitrate [77]. The observed variance in eradication rates may be attributable to differential metabolic processes influenced by the type of proton pump inhibitors employed [78, 80]. Furthermore, Furuta et al. have identified that the effectiveness of eradication treatments could be modulated by variations in liver cytochrome genotypic status [81].

Modifying the selection and dosage of the acid-suppressing agent may serve as an additional strategy to enhance the effectiveness of eradication therapy. In one of the arms of our study, a single-antibiotic high-dose amoxicillin therapy was used. Zullo et al. demonstrated 87.5% eradication success with a ten-day dual therapy of high-dose amoxicillin and esomeprazole [82]. Even higher effectiveness, i.e. 91.3% has been demonstrated with a 14-day rabeprazole-containing dual therapy [76]. A potential approach to further optimize this could involve increasing the PPI dosing frequency, such as administering it every 6 hours, as recommended in some Asian studies [78]. However, this adjustment

might be more applicable to individuals categorized as ‘fast-metabolisers’, a group less commonly found in Western populations.

A viable resolution could involve substituting the PPI with a more effective acidity-reducing agent, specifically a potassium-competitive acid blocker (P-CAB). Notably, dual therapy involving P-CAB and amoxicillin has yielded encouraging outcomes in Japan [83, 84], and similar trials are underway in Europe. Additionally, this combination therapy is anticipated to have a reduced impact on inducing resistome [85], though this still needs empirical validation.

In the standard triple therapy group, a higher incidence of adverse effects was reported, particularly with clarithromycin use, leading to complications like antibiotic-associated diarrhoea [86, 87]. Although studies comparing triple clarithromycin-based and quadruple bismuth-based therapies indicated similar adverse effects, the severity was less marked with bismuth [88], which is generally safe and well-tolerated in *H. pylori* treatment. Ford et al. [89] noted that bismuth therapy’s most common side effect is dark-coloured stool due to bismuth sulfide formation, a harmless and reversible effect. Conversely, bitter taste, diarrhoea, and abdominal pain were deemed more troublesome with clarithromycin therapy, potentially impacting patient compliance.

Several studies have shown that various probiotics can inhibit *H. pylori* through both immunological and non-immunological means, including altering the host’s immune response and affecting bacterial growth [36]. *S. boulardii* has demonstrated the ability to prevent *H. pylori* adhesion to the gastric mucosa and exhibited antimicrobial activity, it has also been effective in reducing side effects like abdominal pain and antibiotic-associated diarrhoea [62, 63]. Research on the role of *S. boulardii* in enhancing *H. pylori* eradication showed however mixed results. While Cindoruk et al. found a higher eradication rate with *S. boulardii* (71.0% vs. 59.7%, $p > 0.05$) and a reduction in symptoms like diarrhoea, they did not report a significant overall impact on eradication rates [90]. Zojaji’s study noted a slight increase in eradication rates when *S. boulardii* was added to standard 14-day triple therapy (87.5% vs. 81.2%, $p = 0.350$) [91]. Gotteland et al. observed that *S. boulardii* alone led to a 12% eradication rate in children [92]. In our study, the only treatment achieving over 90% eradication rate was the 10-day probiotic therapy, with other regimens showing 83–88.9% efficacy, similar to Latvia’s average [93]. The 10-day probiotic therapy’s higher success rate was likely due to greater patient compliance. While the use of probiotics showed marginally improved efficacy, the differences were not statistically significant.

In this study, a relative decrease in adverse events was noted in the 14-day treatment cohort when supplemented with *S. boulardii*. While the probiotic treatment generally appeared to reduce side effects, this difference did not reach statistical significance. The most notable impact of probiotics was on reducing diarrhoea frequency during the 14-day treatment.

Probiotic subgroups, especially in the ten-day treatment plan, exhibited the highest levels of patient compliance, presumably related to a lower occurrence of adverse events. This study contributes to the current research on the efficacy and adverse effects of treatments for *H. pylori* eradication. It particularly emphasizes the impact of varying treatment lengths and the inclusion of probiotics. Unlike previous studies, our research established four distinct treatment arms based on set criteria, allowing for a detailed analysis of the impact of each variable on treatment efficacy and side effects.

The first part of the doctoral research is also the first study in a Caucasian population to evaluate the microbiome perturbations after high-dose amoxicillin therapy in combination with bismuth for *H. pylori* eradication.

Most of the previous studies have evaluated immediate (within two weeks) or short-term (two to three months) effects of the antibiotics on the gut microbiota, mostly they included a relatively small number of study subjects [94, 95]. A significant short-term microbiota alteration was proved in all the studies, generally supporting the long-term (six months and more) safety of *H. pylori* eradication therapy. A study from Jakobsson et al. which included six patients suggested that the bacterial diversity decreased immediately after the eradication therapy with clarithromycin and metronidazole, however, one up to four years later the bacterial diversity was similar to that found before treatment [96]. Observed long-term variations were mostly related to genus level [34, 96].

Important previous landmark studies were using bacterial culture to address resistance patterns after eradication [97, 98]. Most of the recent studies, predominantly from Asian countries, have been using 16S rRNA sequencing for the evaluation of alpha and beta diversities in patients having received *H. pylori* eradication therapies [34, 35, 99]. Several of the more recent studies have used metagenome sequencing, therefore allowing addressing the composition of the resistome [19, 100]; in our study, metagenome sequencing was used as the primary testing method.

Recently a large randomized study from Taiwan has addressed gut resistome aspects following second-line eradication regimens whether with esomeprazole, amoxicillin, metronidazole and levofloxacin for 14 days or esomeprazole, bismuth, tetracycline, and metronidazole for 10 days. By either regimen, the initially altered resistome was already restored to the pretreatment level by week 8 [101]. It is noteworthy that clarithromycin was not used in this study.

Clarithromycin and metronidazole induce the pool of resistant bacteria in gut microbiota [96, 102, 103]. Although according to the current guidelines, clarithromycin-based triple therapies should be avoided for empirical use in *H. pylori* eradication except for the areas of low resistance (< 15%), they remain the most commonly used therapies in Europe. As clarithromycin is widely used to treat various life-threatening diseases and can provoke bacterial

resistance, it would be advisable to consider other eradication regimens without clarithromycin.

Use of bismuth-based therapies, either in standard quadruple combinations or by adding to other therapy regimens, including clarithromycin-based triple regimens are being used to increase the effectiveness and also to overcome *H. pylori* resistance [33]. Furthermore, there are indications that bismuth-based therapies may have less effect on the gut resistome; therefore a bismuth-based combination was used in our study. Bismuth has been demonstrated not to leave a long-term effect on *E.coli* resistance in previous studies [34, 35]. A study in Europe by Prast-Nielsen et al [104] including 38 patients with a six-month follow-up demonstrated only a partial recovery of alpha diversity either in the group receiving bismuth or non-bismuth regimens. However, Liou et al [35] has study found that alpha and beta diversities were not fully restored even at 1 year in patients treated with bismuth quadruple therapy and non-bismuth-containing quadruple therapies. On the other hand, the authors did not identify increased antibiotic resistance of *E. coli* either with the bismuth or non-bismuth regimens.

The greatest advantage of using amoxicillin-based therapy is its low impact on the gut microbiome. A large meta-analysis from the UK examined 10 studies about the effect of orally administered amoxicillin that had very little and rapidly recovering effect on the human microbiome [105]. Despite the changes caused by short-term beta-lactam therapy, both gut microbiota and resistome composition recovered promptly to baseline one week after cessation of the medicament [106].

Our study did not observe significant differences in microbial composition before and six months after eradication in the AMX/BI group; it did not differ from the control group.

The most interesting finding of our study was the statistically significant increase in ARG counts having been maintained within six months following standard clarithromycin-based triple therapy; this effect has been seen neither in the AMX/BI nor the control group. In the AMX/CLARI subgroup, we have observed multiform changes in the resistance mechanism level, which are typical for macrolides. The weightiest transformations in resistance mechanisms were acquired through 23S rRNA methyltransferases, drug and biocide MATE efflux pumps; as well as MLS resistance MFS efflux pumps responsible for cross-resistance to other antibacterial agents, such as lincosamides and streptogramins. The mechanisms mentioned above have an obvious negative impact on the therapeutic efficacy of antibiotics in the MLS class [24]. Moreover, significant changes were discovered in metal resistance regulators – zinc and copper. Some recent studies, mainly in veterinary, confirmed a strong correlation between copper resistance to macrolide and glycopeptide resistance [107, 108]. The findings indicate an alarming tendency of long-term multidrug- and

metal-resistance acquisition after macrolide therapy. Persistent macrolide resistance of the gut microbiota after the eradication has been demonstrated before; triple therapies including two antibiotics tended to build resistance in *Streptococci*, *Staphylococci*, *Enterococci*, *Enterobacteriaceae* and *Bacteroides* species, even after 1-4 years [94, 109-112].

Several important strengths of our study deserve to be emphasized. A key strength of this study lies in the use of randomized controlled trials, which are considered the gold standard in clinical research. The study employed clear randomization procedures, well-defined control groups, and included both intention-to-treat and per-protocol analyses. These methodological choices enhance the validity of the findings and reduce potential biases. We have enrolled participants from a general population cohort, i.e., population characterizing the population entitled for gastric cancer prevention by *H. pylori* eradication. We did not include subjects having undergone *H. pylori* eradication beforehand, therefore the potential impact of previous eradication treatment upon the gut resistome might be minimal. Importantly, our study was designed by including a group of control; the lack of changes in this group supports the relevance of the findings in subjects having undergone antibiotic treatment. Metagenome sequencing was applied to address the diversity of microbiome and resistant bacteria communities in all the samples; the sample size was large when compared to similar studies. We consider that the model we suggested here could potentially be used for therapy evaluation before recommending for broad-scale use.

In summary, our study suggests that the traditional 14-day clarithromycin-based triple eradication therapy increases the number of resistant bacteria in the gut remaining persistent for at least six months following the treatment. To avoid this, therapies without clarithromycin should be preferred for wide use to prevent gastric cancer in population-based settings. Although the bismuth-containing therapy which we used (AMX/BI) had a lesser effect on gut resistome, broad use of this treatment regimen cannot be recommended universally because of lower efficacy. Bismuth-containing quadruple therapies without macrolides or therapies with high-dose amoxicillin in combination with potassium competitive acid blockers with or without bismuth could be among the potential solutions. However, not only their efficacy but also the effect on gut resistome should be evaluated before the therapies could be recommended for the use in general asymptomatic population [6].

CONCLUSIONS

Our study addresses a significant global health issue – *H. pylori* infection and antibiotic resistance. The findings from this research provide valuable insights into the effectiveness of alternative *H. pylori* eradication regimens, identifying areas where current treatment strategies may require improvement.

1. The high-dose amoxicillin/bismuth regimen demonstrates a lower eradication rate compared to the clarithromycin-based triple therapy. As a result, adding bismuth to the high-dose amoxicillin regimen cannot be recommended, since it failed to achieve the desired efficacy threshold. While this regimen could potentially reduce macrolide usage, further modifications are needed to enhance its effectiveness. Additionally, although there was a trend toward improved efficacy with the addition of *S. boulardii* to standard triple therapy, this did not result in a statistically significant overall increase in eradication rates. These findings indicate that while probiotic supplementation holds promise for improving treatment outcomes, its impact on overall eradication efficacy needs further investigation.
2. Compared to the traditional clarithromycin-based regimen, the high-dose amoxicillin/bismuth regimen results in significantly fewer adverse effects, such as diarrhoea and gastrointestinal discomfort. Despite this, the amoxicillin/bismuth regimen cannot be recommended for widespread use, as it did not achieve the required efficacy threshold. Conversely, the addition of *S. boulardii* to the standard triple therapy shows a trend towards reducing side effects, particularly in decreasing the occurrence of diarrhoea in the 14-day regimen. However, these changes are not statistically significant.
3. The reduction in adverse events associated with the high-dose amoxicillin/bismuth regimen, as well as the adjunct use of *S. boulardii*, likely contribute to relatively higher compliance rates. Fewer side effects generally lead to better patient adherence, which can enhance the treatment's overall success.
4. Standard clarithromycin-based triple *H. pylori* eradication therapy increases the number of resistant bacteria and thus affects the gut resistome. This impact on the resistome is persistent for at least six months following completion of treatment. Consequently, the use of this therapy should not be recommended even in the areas with low *H. pylori* resistance to clarithromycin, at least for gastric cancer prevention indication. For this purpose, other therapies should be recommended, and the effect of the particular therapy on gut microbiome induction should be evaluated before broad-scale implementation is recommended.

5. The findings highlight the necessity for alternative *H. pylori* eradication strategies that reduce antibiotic resistance and adverse effects on gut health. The data advocate for reevaluating the widespread use of clarithromycin-based therapies in areas with significant resistance, recommending the integration of bismuth-based regimens as first-line treatment options where applicable. While the high-dose amoxicillin/bismuth regimen shows promise in minimizing adverse events and disruptions to the microbiome, its lower efficacy calls for further optimization.

FUTURE DIRECTIONS AND IMPLEMENTATION OF FINDINGS

The observed increase in antibiotic resistant gut bacteria following a standard clarithromycin-based triple *H. pylori* eradication therapy is suggesting to limit the use of these therapies even in the areas with low *H. pylori* resistance to clarithromycin

These findings emphasize the necessity for ongoing research to optimize *H. pylori* eradication strategies, balancing efficacy with the broader impacts on microbial resistance and patient well-being. Future studies should focus on improving treatment protocols to enhance eradication rates, reduce adverse events, and preserve gut microbiome integrity, thereby improving patient outcomes and compliance. We suggest that whenever introducing new antibiotic-based therapy regimens for prevention such as in the case of gastric cancer prevention, long-term effects on gut resistome induction potential should be conducted.

It is advisable to establish long-term surveillance and monitoring programs to effectively evaluate the sustainability of eradication, detect any recurrence of infection, and monitor the long-term impact on gut health, particularly the potential development of resistant strains.

AVOTI / REFERENCES

1. Malfertheiner, P., et al., *Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht VI/Florence Consensus Report*. Gut, 2017. **66**(1): p. 6–30.
2. S. Freisberg, C.S., J. Bornschein, *REVIEW: PATHOGENESIS OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION*. Microb Health Dis, 2022. **4** (3): p. e717.
3. Zamani, M., et al., *Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of Helicobacter pylori infection*. Aliment Pharmacol Ther, 2018. **47**(7): p. 868–876.
4. Hooi, J. K. Y., et al., *Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis*. Gastroenterology, 2017. **153**(2): p. 420–429.
5. den Hoed, C. M., et al., *Helicobacter pylori and the birth cohort effect: evidence for stabilized colonization rates in childhood*. Helicobacter, 2011. **16**(5): p. 405–9.
6. Leja, M. and U. Dumpis, *What Would the Screen-and-Treat Strategy for Helicobacter pylori Mean in Terms of Antibiotic Consumption?* Dig Dis Sci, 2020. **65**(6): p. 1632–1642.
7. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin, 2024. **74**(3): p. 229–263.
8. Sugano, K., et al., *Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis*. Gut, 2015. **64**(9): p. 1353–67.
9. Nyssen, O. P., et al., *European Registry on Helicobacter pylori management (Hp-EuReg): patterns and trends in first-line empirical eradication prescription and outcomes of 5 years and 21 533 patients*. Gut, 2021. **70**(1): p. 40–54.
10. Graham, D. Y. and L. Fischbach, *Helicobacter pylori treatment in the era of increasing antibiotic resistance*. Gut, 2010. **59**(8): p. 1143–53.
11. Ruiter, R., et al., *Helicobacter pylori resistance in the Netherlands: a growing problem?* Neth J Med, 2017. **75**(9): p. 394–398.
12. Malfertheiner, P., et al., *Management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht VI/Florence consensus report*. Gut, 2022.
13. Shi, X., et al., *Efficacy and safety of probiotics in eradicating Helicobacter pylori: A network meta-analysis*. Medicine (Baltimore), 2019. **98**(15): p. e15180.
14. Heianza, Y., et al., *Duration and Life-Stage of Antibiotic Use and Risks of All-Cause and Cause-Specific Mortality: Prospective Cohort Study*. Circ Res, 2020. **126**(3): p. 364–373.
15. Nyssen, O. P., A. G. McNicholl, and J. P. Gisbert, *Meta-analysis of three-in-one single capsule bismuth-containing quadruple therapy for the eradication of Helicobacter pylori*. Helicobacter, 2019. **24**(2): p. e12570.
16. McNicholl, A. G., et al., *Combination of Bismuth and Standard Triple Therapy Eradicates Helicobacter pylori Infection in More than 90% of Patients*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020. **18**(1): p. 89–98.
17. Wright, G. D., *The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity*. Nat Rev Microbiol, 2007. **5**(3): p. 175–86.

18. Davies, J. and D. Davies, *Origins and evolution of antibiotic resistance*. Microbiol Mol Biol Rev, 2010. **74**(3): p. 417–33.
19. Olekhovich, E. I., et al., *Shifts in the Human Gut Microbiota Structure Caused by Quadruple Helicobacter pylori Eradication Therapy*. Front Microbiol, 2019. **10**: p. 1902.
20. Schjorring, S. and K. A. Krogfelt, *Assessment of bacterial antibiotic resistance transfer in the gut*. Int J Microbiol, 2011. **2011**: p. 312956.
21. Smillie, C. S., et al., *Ecology drives a global network of gene exchange connecting the human microbiome*. Nature, 2011. **480**(7376): p. 241–4.
22. Lund, D., et al., *Large-scale characterization of the macrolide resistome reveals high diversity and several new pathogen-associated genes*. Microb Genom, 2022. **8**(1).
23. Gomes, C., et al., *Azithromycin resistance levels and mechanisms in Escherichia coli*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 6089.
24. Leclercq, R., *Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications*. Clin Infect Dis, 2002. **34**(4): p. 482–92.
25. Schroeder, M R. and D. S. Stephens, *Macrolide Resistance in Streptococcus pneumoniae*. Front Cell Infect Microbiol, 2016. **6**: p. 98.
26. Kumar, S., M. M. Mukherjee, and M. F. Varela, *Modulation of Bacterial Multidrug Resistance Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily*. Int J Bacteriol, 2013. **2013**.
27. Egorov, A. M., M. M. Ulyashova, and M. Y. Rubtsova, *Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance*. Acta Naturae, 2018. **10**(4): p. 33–48.
28. Nishino, K., et al., *Function and Inhibitory Mechanisms of Multidrug Efflux Pumps*. Front Microbiol, 2021. **12**: p. 737288.
29. Ungureanu, V., *[Macrolides, lincosamides, streptogramins (MLS): mechanisms of action and resistance]*. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol, 2010. **55**(2): p. 131–8.
30. O'Neill, J. *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. The review on Antimicrobial Resistance*. 2014 [cited 2020 Aug 20]; Available from: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf.
31. Long, X., et al., *Bismuth improves efficacy of proton-pump inhibitor clarithromycin, metronidazole triple Helicobacter pylori therapy despite a high prevalence of antimicrobial resistance*. Helicobacter, 2018. **23**(3): p. e12485.
32. Yang, X., J. X. Wang, S. X. Han, and C. P. Gao, *High dose dual therapy versus bismuth quadruple therapy for Helicobacter pylori eradication treatment: A systematic review and meta-analysis*. Medicine (Baltimore), 2019. **98**(7): p. e14396.
33. Graham, D. Y. and S. Y. Lee, *How to Effectively Use Bismuth Quadruple Therapy: The Good, the Bad, and the Ugly*. Gastroenterol Clin North Am, 2015. **44**(3): p. 537–63.
34. Liou, J. M., et al., *Long-term changes of gut microbiota, antibiotic resistance, and metabolic parameters after Helicobacter pylori eradication: a multicentre, open-label, randomised trial*. Lancet Infect Dis, 2019. **19**(10): p. 1109–1120.
35. Zhou, Y., et al., *Long-term changes in the gut microbiota after triple therapy, sequential therapy, bismuth quadruple therapy and concomitant therapy for Helicobacter pylori eradication in Chinese children*. Helicobacter, 2021. **26**(4): p. e12809.

36. Homan, M. and R. Orel, *Are probiotics useful in Helicobacter pylori eradication?* World J Gastroenterol, 2015. **21**(37): p. 10644–53.
37. Sakarya, S. and N. Gunay, *Saccharomyces boulardii expresses neuraminidase activity selective for alpha2,3-linked sialic acid that decreases Helicobacter pylori adhesion to host cells.* APMIS, 2014. **122**(10): p. 941–50.
38. Chen, Y. C., et al., *Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection and Incidence of Gastric Cancer Between 1980 and 2022.* Gastroenterology, 2024. **166**(4): p. 605–619.
39. Fuccio, L., L. H. Eusebi, and F. Bazzoli, *Gastric cancer, Helicobacter pylori infection and other risk factors.* World J Gastrointest Oncol, 2010. **2**(9): p. 342–7.
40. Warren, J. R. and B. Marshall, *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis.* Lancet, 1983. **1**(8336): p. 1273–5.
41. Malfertheiner, P., et al., *Helicobacter pylori infection.* Nat Rev Dis Primers, 2023. **9**(1): p. 19.
42. Dixon, M. F., R. M. Genta, J. H. Yardley, and P. Correa, *Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994.* Am J Surg Pathol, 1996. **20**(10): p. 1161–81.
43. Duan, Y., Y. Dou, and D. Xu, *How Can We Better Understand the Gastric Carcinogenesis of Helicobacter pylori?* Gastroenterology, 2022. **163**(4): p. 1121–1122.
44. Yue, H., L. Shan, and L. Bin, *The significance of OLGA and OLGIM staging systems in the risk assessment of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis.* Gastric Cancer, 2018. **21**(4): p. 579–587.
45. Malfertheiner, P., et al., *Management of Helicobacter pylori infection – the Maastricht IV/ Florence Consensus Report.* Gut, 2012. **61**(5): p. 646–64.
46. Dinis-Ribeiro, M., et al., *Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSG), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED).* Virchows Arch, 2012. **460**(1): p. 19–46.
47. Rawla, P., T. Sunkara, A. Ofori, and V. Gaduputi, *Potassium-competitive acid blockers – are they the next generation of proton pump inhibitors?* World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2018. **9**(7): p. 63–68.
48. Liou, J. M., et al., *Screening and eradication of Helicobacter pylori for gastric cancer prevention: the Taipei global consensus.* Gut, 2020. **69**(12): p. 2093–2112.
49. Pimentel-Nunes, P., et al., *Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS II): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), European Society of Pathology (ESP), and Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED) guideline update 2019.* Endoscopy, 2019. **51**(4): p. 365–388.
50. Graham, D. Y., *Transitioning of Helicobacter pylori Therapy from Trial and Error to Antimicrobial Stewardship.* Antibiotics (Basel), 2020. **9**(10).
51. Rokkas, T., et al., *Comparative Effectiveness of Multiple Different First-Line Treatment Regimens for Helicobacter pylori Infection: A Network Meta-analysis.* Gastroenterology, 2021. **161**(2): p. 495–507 e4.
52. Bujanda, L., et al., *Effectiveness of Helicobacter pylori Treatments According to Antibiotic Resistance.* Am J Gastroenterol, 2024. **119**(4): p. 646–654.

53. Megraud, F., et al., *Rates of Antimicrobial Resistance in Helicobacter pylori Isolates From Clinical Trial Patients Across the US and Europe*. Am J Gastroenterol, 2023. **118**(2): p. 269–275.
54. Roberts, L. T., et al., *Helicobacter Pylori: A Review of Current Treatment Options in Clinical Practice*. Life (Basel), 2022. **12**(12).
55. Zhu, Y. J., et al., *High dose PPI-amoxicillin dual therapy for the treatment of Helicobacter pylori infection: a systematic review with meta-analysis*. Therap Adv Gastroenterol, 2020. **13**: p. 1756284820937115.
56. Boyanova, L., et al., *Multidrug resistance in Helicobacter pylori: current state and future directions*. Expert Rev Clin Pharmacol, 2019. **12**(9): p. 909–915.
57. Graham, D. Y. and M.P. Dore, *Helicobacter pylori therapy: a paradigm shift*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2016. **14**(6): p. 577–85.
58. Macedo Silva, V., et al., *A “new” option in Helicobacter pylori eradication: High-dose amoxicillin dual therapy outperforms bismuth quadruple therapy in a high dual resistance setting*. Helicobacter, 2023. **28**(3): p. e12962.
59. Carmichael, H., S.M. Asch, and E. Bendavid, *Clostridium difficile and other adverse events from overprescribed antibiotics for acute upper respiratory infection*. J Intern Med, 2023. **293**(4): p. 470–480.
60. Lv, Z., et al., *Efficacy and safety of probiotics as adjuvant agents for Helicobacter pylori infection: A meta-analysis*. Exp Ther Med, 2015. **9**(3): p. 707–716.
61. Kelesidis, T. and C. Pothoulakis, *Efficacy and safety of the probiotic Saccharomyces boulardii for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders*. Therap Adv Gastroenterol, 2012. **5**(2): p. 111–25.
62. McFarland, L. V., *Systematic review and meta-analysis of Saccharomyces boulardii in adult patients*. World J Gastroenterol, 2010. **16**(18): p. 2202–22.
63. Szajewska, H. and M. Kolodziej, *Systematic review with meta-analysis: Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea*. Aliment Pharmacol Ther, 2015. **42**(7): p. 793–801.
64. Duman, D. G., et al., *Efficacy and safety of Saccharomyces boulardii in prevention of antibiotic-associated diarrhoea due to Helicobacterpylori eradication*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2005. **17**(12): p. 1357–61.
65. Shirasawa, Y., H. Shibahara-Sone, T. Iino, and F. Ishikawa, *Bifidobacterium bifidum BF-1 suppresses Helicobacter pylori-induced genes in human epithelial cells*. J Dairy Sci, 2010. **93**(10): p. 4526–34.
66. Wang, Y., et al., *Comparative effectiveness of different probiotics supplements for triple helicobacter pylori eradication: a network meta-analysis*. Front Cell Infect Microbiol, 2023. **13**: p. 1120789.
67. Leja, M., et al., *Multicentric randomised study of Helicobacter pylori eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality: the GISTAR study*. BMJ Open, 2017. **7**(8): p. e016999.
68. U.S. Department of Health and Human Sciences, N.I.o.H., National Cancer Institute. *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 5.0*. 2017 [cited 2020 Mar 21]; Available from: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf
69. Gudra, D., et al., *A widely used sampling device in colorectal cancer screening programmes allows for large-scale microbiome studies*. Gut, 2019. **68**(9): p. 1723–1725.

70. rtu-stag. *STaG-based bioinfo pipeline for procesing metagenomics data*. Github. 18.09.2021]; Available from: <https://github.com/LU-KPMI/rtu-stag>.
71. stag-mwc. *StaG Metagenomic Workflow Collaboration*. Github. 18.09.2021]; Available from: <https://github.com/ctmrbio/stag-mwc>.
72. Chen, S., Y. Zhou, Y. Chen, and J. Gu, *fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor*. Bioinformatics, 2018. **34**(17): p. i884–i890.
73. Wood, D. E., J. Lu, and B. Langmead, *Improved metagenomic analysis with Kraken 2*. Genome Biol, 2019. **20**(1): p. 257.
74. Jennifer Lu, F.P.B., Peter Thielen, Steven L. Salzberg, Bracken: *Estimating species abundance in metagenomics data*. PeerJ Computer Science, 2017. **1**(e104).
75. Doster, E., et al., *MEGARes 2.0: a database for classification of antimicrobial drug, biocide and metal resistance determinants in metagenomic sequence data*. Nucleic Acids Res, 2020. **48**(D1): p. D561–D569.
76. Ozturk, K., et al., *High-dose dual therapy is effective as first-line treatment for Helicobacter pylori infection*. Turk J Gastroenterol, 2020. **31**(3): p. 234–238.
77. Yu, L., et al., *High-dose PPI-amoxicillin dual therapy with or without bismuth for first-line Helicobacter pylori therapy: A randomized trial*. Helicobacter, 2019. **24**(4): p. e12596.
78. Dore, M. P., H. Lu, and D. Y. Graham, *Role of bismuth in improving Helicobacter pylori eradication with triple therapy*. Gut, 2016. **65**(5): p. 870–8.
79. Zhang, L., et al., *Application of Minocycline-Containing Bismuth Quadruple Therapies as First-Line Regimens in the Treatment of Helicobacter pylori*. Gastroenterol Res Pract, 2019. **2019**: p. 9251879.
80. El Rouby, N., J.J. Lima, and J.A. Johnson, *Proton pump inhibitors: from CYP2C19 pharmacogenetics to precision medicine*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018. **14**(4): p. 447–460.
81. Furuta, T., et al., *Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies*. Drug Metab Pharmacokinet, 2005. **20**(3): p. 153–67.
82. Zullo, A., et al., *High-dose esomeprazole and amoxicillin dual therapy for first-line Helicobacter pylori eradication: a proof of concept study*. Ann Gastroenterol, 2015. **28**(4): p. 448–51.
83. Suzuki, S., et al., *Seven-day vonoprazan and low-dose amoxicillin dual therapy as first-line Helicobacter pylori treatment: a multicentre randomised trial in Japan*. Gut, 2020. **69**(6): p. 1019–1026.
84. Furuta, T., et al., *Expectations for the Dual Therapy with Vonoprazan and Amoxicillin for the Eradication of H. pylori*. J Clin Med, 2023. **12**(9).
85. Graham, D. Y., H. Lu, and A. Shiotani, *Vonoprazan-containing Helicobacter pylori triple therapies contribution to global antimicrobial resistance*. J Gastroenterol Hepatol, 2021. **36**(5): p. 1159–1163.
86. Wilcox, M. H., *Clarithromycin and risk of Clostridium difficile-associated diarrhoea*. J Antimicrob Chemother, 2001. **47**(3): p. 358–9.
87. Guyot, A., M. D. Rawlins, and S.P. Barrett, *Clarithromycin appears to be linked with Clostridium difficile-associated diarrhoea in the elderly*. J Antimicrob Chemother, 2000. **46**(4): p. 642–3.
88. Malferteiner, P., et al., *Helicobacter pylori eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole*

- versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet*, 2011. **377**(9769): p. 905–13.
89. Ford, A. C., et al., *Adverse events with bismuth salts for Helicobacter pylori eradication: systematic review and meta-analysis*. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(48): p. 7361–70.
 90. Cindoruk, M., et al., *Efficacy and safety of Saccharomyces boulardii in the 14-day triple anti-Helicobacter pylori therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study*. *Helicobacter*, 2007. **12**(4): p. 309–16.
 91. Zojaji, H., et al., *The efficacy and safety of adding the probiotic Saccharomyces boulardii to standard triple therapy for eradication of H.pylori: a randomized controlled trial*. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2013. **6**(Suppl 1): p. S99–S104.
 92. Gotteland, M., L. Poliak, S. Cruchet, and O. Brunser, *Effect of regular ingestion of Saccharomyces boulardii plus inulin or Lactobacillus acidophilus LB in children colonized by Helicobacter pylori*. *Acta Paediatr*, 2005. **94**(12): p. 1747–51.
 93. Sjomina, O., et al., *Randomised clinical trial: comparison of efficacy and adverse effects of a standard triple clarithromycin-containing regimen with high-dose amoxicillin and bismuth therapy in Helicobacter pylori eradication*. *Eur J Cancer Prev*, 2022. **31**(4): p. 333–338.
 94. A. O'Connor, J. M. L., J. P. Gisbert, C. O'Morain, *The Effect of Helicobacter pylori antibiotic therapy on the microbiome*. *Microbiota in Health and Disease*, 2020. **2**(e205).
 95. Chen, L., et al., *The impact of Helicobacter pylori infection, eradication therapy and probiotic supplementation on gut microenvironment homeostasis: An open-label, randomized clinical trial*. *EBioMedicine*, 2018. **35**: p. 87–96.
 96. Jakobsson, H. E., et al., *Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome*. *PLoS One*, 2010. **5**(3): p. e9836.
 97. Saracino, I. M., et al., *Antibiotic Resistance and Therapy Outcome in H. pylori Eradication Failure Patients*. *Antibiotics (Basel)*, 2020. **9**(3).
 98. Megraud, F., et al., *Helicobacter pylori resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community*. *Gut*, 2021. **70**(10): p. 1815–1822.
 99. Hsu, P. I., et al., *Short-term and long-term impacts of Helicobacter pylori eradication with reverse hybrid therapy on the gut microbiota*. *J Gastroenterol Hepatol*, 2019. **34**(11): p. 1968–1976.
 100. Glushchenko, O. E., et al., *Data on gut metagenomes of the patients with Helicobacter pylori infection before and after the antibiotic therapy*. *Data Brief*, 2017. **11**: p. 68–71.
 101. Liou, J. M., et al., *Second-line levofloxacin-based quadruple therapy versus bismuth-based quadruple therapy for Helicobacter pylori eradication and long-term changes to the gut microbiota and antibiotic resistome: a multicentre, open-label, randomised controlled trial*. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023. **8**(3): p. 228–241.
 102. Nel Van Zyl, K., et al., *Effect of antibiotics on the human microbiome: a systematic review*. *Int J Antimicrob Agents*, 2022. **59**(2): p. 106502.
 103. Yang, L., et al., *The varying effects of antibiotics on gut microbiota*. *AMB Express*, 2021. **11**(1): p. 116.
 104. Prast-Nielsen S., M. A. G., O'Morain C., Megraud F., Machado J. C., Alarcon T., Leja M., Gasbarrini A., Andersen L. P., Engstrand L., Gisbert J. P. *European*

- Helicobacter and Microbiota Study Group *Comparison of the impact of Helicobacter pylori eradication treatment with bismuth and non-bismuth quadruple regimens on the gut microbiota*. *Microb Health Dis*, 2019. **1**(e145).
105. Elvers, K. T., et al., *Antibiotic-induced changes in the human gut microbiota for the most commonly prescribed antibiotics in primary care in the UK: a systematic review*. *BMJ Open*, 2020. **10**(9): p. e035677.
 106. MacPherson, C. W., et al., *Gut Bacterial Microbiota and its Resistome Rapidly Recover to Basal State Levels after Short-term Amoxicillin-Clavulanic Acid Treatment in Healthy Adults*. *Sci Rep*, 2018. **8**(1): p. 11192.
 107. Hasman, H. and F.M. Aarestrup, *tcrB, a gene conferring transferable copper resistance in Enterococcus faecium: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002. **46**(5): p. 1410–6.
 108. Kim, J., S. Lee, and S. Choi, *Copper resistance and its relationship to erythromycin resistance in Enterococcus isolates from bovine milk samples in Korea*. *J Microbiol*, 2012. **50**(3): p. 540–3.
 109. Adamsson, I., C. Edlund, and C. E. Nord, *Impact of treatment of Helicobacter pylori on the normal gastrointestinal microflora*. *Clin Microbiol Infect*, 2000. **6**(4): p. 175–7.
 110. Sjolund, M., et al., *Long-term persistence of resistant Enterococcus species after antibiotics to eradicate Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med*, 2003. **139**(6): p. 483–7.
 111. Sjolund, M., et al., *Persistence of resistant Staphylococcus epidermidis after single course of clarithromycin*. *Emerg Infect Dis*, 2005. **11**(9): p. 1389–93.
 112. Jakobsson, H., et al., *Macrolide resistance in the normal microbiota after Helicobacter pylori treatment*. *Scand J Infect Dis*, 2007. **39**(9): p. 757–63.

ACKNOWLEDGEMENTS

I want to express my deepest gratitude to my academic supervisor and source of inspiration, **Professor Mārcis Leja**, for his continuous support, invaluable advice, and the opportunity to embark on this exciting academic journey.

I sincerely thank **my family** for their unwavering support and encouragement to keep pursuing this work.

Special thanks go to **Professor Lilian Tzivian** – you have become a true role model for me, both in life and in academia. I am also grateful to **Inese Poļaka** for always offering her help in challenging situations.

My heartfelt thanks to **Reinis Vangravs, Daiga Šantare, Ilva Daugule, Danute Ražuka-Ebela, Aiga Rūdule**, the entire team, and all co-authors – without your contribution, this work would not have been possible.