



T.C

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RAMAZAN ORUCUNUN PREDİYABET HASTALARININ
METABOLİK PARAMETRELERİ VE MİKROBİYOTA
DEĞİŞİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

FATMA KOÇ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. SÜLEYMAN YILDIRIM

İSTANBUL-2018



T.C

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RAMAZAN ORUCUNUN PREDİYABET HASTALARININ
METABOLİK PARAMETRELERİ VE MİKROBİYOTA
DEĞİŞİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

FATMA KOÇ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. SÜLEYMAN YILDIRIM

İSTANBUL-2018

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji
Tez Sahibi : Fatma KOÇ
Tez Başlığı : Ramazan Orucunun Prediyabet Hastalarının Metabolik Parametreleri ve Mikrobiyota Değişimleri Üzerine Etkisi
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Kavacık Yerleşkesi
Sınav Tarihi : 06.08.2018

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç.Dr.Süleyman YILDIRIM

Kurumu

İstanbul Medipol Üniversitesi

İmza



Sınav Jüri Üyeleri

Dr.Öğr.Üyesi Özlem GÜVEN

İstanbul Medipol Üniversitesi

Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

Uludağ Üniversitesi



Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun .07/.08/.2018 tarih ve .2018./...31...-...25. sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kalavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof. Dr. Neslin E.MERKİ, I
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün saflalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Fatma KOÇ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin süresince ve tez çalışmamın her alanında bilgisini ve deneyimini benimle paylaşan danışmanım Doç. Dr. Süleyman YILDIRIM'a

Çalışmamın örnek toplama kısmında destek olan Dr. Öğr. Üyesi İhsan BOYACI'ya

Deneylerime yardımcı olan canım arkadaşım Damla KORKMAZ'a,

Tezimin özellikle yazım aşamasında manevi destekleriyle hep yanımda olan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir konuda desteklerini esirgemeyip her zaman yanımda olan aileme,

çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU.....	i
BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. Diabetes Mellitus.....	5
4.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitusun Epidemiyolojisi	5
4.1.2. Tanı	6
4.1.3. Diyabetes Mellitus'un Patogenezi ve Evreleri.....	7
4.2. İnsülin Direnci	7
4.2.1. İnsülin Metabolizması.....	8
4.2.2. İnsülin Direnci	9
4.3. Prediyabet	15
4.3.1. Prediyabetin Tanımı.....	15
4.3.2. Prediyabetin Prevalansı ve Önemi	15
4.3.3. Prediyabetin Önlem ve Tedavisi.....	15
4.4. Açlık Fizyolojisi ve Etkileri	15

4.5. Ramazan Orucu ve Prediyabet	18
4.6. Bağırsak Mikrobiyotası (BM)	20
4.7. Proinflamatuvar Süreç	24
4.8. Uzun Süreli Açlık ve Mikrobiyota	26
5. MATERYAL VE METOT	28
5.1. Etik Beyan, Deney Dizaynı ve Örneklem	28
5.2. Kan Örnekleri	29
5.2.1. Örneklerin Toplanması	29
5.2.2. Biyokimyasal Testler	29
5.3 Fekal Örnekler	29
5.3.1. Örneklerin Toplanması	29
5.3.2. Genomik DNA İzolasyonu	30
5.3.3. DNA Konsantasyonunun Ölçümü	30
5.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	31
5.3.5. Sekanslama İşlemi, Kümeleme ve Taksonomik Sınıflandırma	31
5.3.5.1. Kütüphane Miktarının Belirlenmesi ve Örnek Havuzunun Hazırlanması	31
5.3.5.2. Kütüphanenin Denatürasyonu ve MiSeq Cihazına Yüklenmesi	32
5.3.5.3. Kümeleme ve Taksonomik Sınıflandırma	32
5.3.6. Topluluk yapılarının ve çeşitliliğinin çok değişkenli analizi	33
6. BULGULAR	34
6.1. Katılımcıların Demografik ve Klinik Verisi	34
6.2. Biyoinformatik Analiz	37
6.2.1. Alfa çeşitlilik	37

6.2.2. Beta çeşitlilik	41
6.2.3. Taksonomik çeşitlilik.....	45
6.2.4. Metadata ve Mikrobiyota Korelasyon Analizi.....	52
7. TARTIŞMA	55
8. SONUÇ.....	58
9. KAYNAKÇA	59
10. EKLER.....	75
11. ETİK KURUL ONAYI.....	76
12. ÖZGEÇMİŞ.....	80

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AKŞ	:	Açlık Kan Şekeri
BM	:	Bağırsak Mikrobiyotası
CRP	:	C-reaktif Protein
DM	:	Diabetes Mellitus
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HbA1C	:	HemoglobinA1c
IL-12	:	İnterlökin 12
KZYA	:	Kısa Zincirli Yağ Asidi
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPS	:	Lipopolisakkarit
µl	:	Mikrolitre
mL	:	Mililitre
ng	:	Nanogram
mm	:	Milimetre
rpm	:	Dakikadaki Devir Sayısı
TSH	:	Tiroid Stimüle Edici Hormon
TNF	:	Tümör Nekrozis Faktör
VLDL	:	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.2.1. İnsülin reseptör sinyal yolları (18).	9
Şekil 4.3.2. İnsülin Direnci ve Mitokondriyal Disfonksiyon (18).	12
Şekil 4.2.3. Retikulum stresi ve insülin direnci gelişmesindeki rolü (18).	14
Şekil 4.4.1. Açlığın sinir ve endokrin sistemler üzerindeki etkileri (57).	17
Şekil 4.6.1. Bağırsak mikrobiyotasının konakçı metabolizması üzerine etkileri (86).	22
Şekil 6.2.1.1. Rarefraction eğrileri.	37
Şekil 6.2.1.2. Alfa çeşitlilik analizi 3 gruba ait tür sayılarının karşılaştırılması. 38	
Şekil 6.2.1.3. Shannon indeksi ile elde edilen alfa çeşitlilik analizi.	39
Şekil 6.2.1.4. Fisher indeksi kullanılarak elde edilen alfa çeşitlilik analizi.	40
Şekil 6.2.1.5. Chao1 indeksi ile hesaplanan alfa çeşitlilik analizi.	41
Şekil 6.2.2.1. Gruplardan elde edilen mikrobiyota analiz sonucunun Bray-Curtis indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA). Elipsler merkez noktaların etrafındaki %95 güven aralıklarını göstermektedir.	42
Şekil 6.2.2.2. Gruplardan elde edilen mikrobiyota analiz sonucunun JACCARD indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA). Elipsler merkez noktaların etrafındaki %95 güven aralıklarını göstermektedir.	43
Şekil 6.2.2.3. Grupların elde edilen örneklerdeki mikrobiyotanın UNIFRAC indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA).	44
Şekil 6.2.2.4. Temel koordinatların kanonik analizi (Canonical Analysis of Principal Coordinates, CAP) ile beta çeşitliliği UNIFRAC indisine göre gösterilmiştir.	45
Şekil 6.2.3.1. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının filum seviyesinde değişimi.	46
Şekil 6.2.3.2. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının aile seviyesinde değişimi. .46	
Şekil 6.2.3.3. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının cins seviyesinde değişimi..47	
Şekil 6.2.3.4. LEfSe (Linear discriminant analysis Effect Size) analizi.	48

Şekil 6.2.3.5. Random Forest regresyon analizi.....	49
Şekil 6.2.3.6. Firmicutes filumu Pearson's korelasyon analizi ile Bacteroidetes filumuyla korelasyon analizi.	50
Şekil 6.2.3.7. Gruplar arası Firmicutes filumu karşılaştırması.	51
Şekil 6.2.3.8. Gruplar arası Bacteroidetes filumu karşılaştırması.	51
Şekil 6.2.3.9. Adonis Analizi	52
Şekil 6.2.3.10. İlgili Kanonik Analiz (CCA).	53
Şekil 6.2.3.11. Spearman korelasyon analizi.....	54

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 5.3.4.1. PCR protokolü.....	31
Tablo 6.1.1 Demografik ve Antropometrik Veriler	35
Tablo 6.1.2 Biyokimyasal Veriler	36

1. ÖZET

RAMAZAN ORUCUNUN PREDİYABET HASTALARININ METABOLİK PARAMETRELERİ VE MİKROBİYOTA DEĞİŞİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Diyabet, prevalansı gün geçtikçe artan metabolik bir hastalıktır. Genellikle insülin direncine bağlı olarak gelişmektedir. Son yıllarda metagenomik araştırmaların gelişmesiyle mikrobiyota analizleri yaygınlaşmıştır. Yapılan birçok çalışmada mikrobiyota ve diyabetin ilişkisi üzerinde durulmuştur. Ayrıca açlık tedavisi de günümüzde diyabet tedavisinde gündemde olan ve terapötik etkileri üzerine yayın sayısı gittikçe artan konulardandır. Yapılan bu tez çalışmasında uzun süreli açlığın mikrobiyota değişimi ve kan parametreleri üzerine etkisi incelenmek üzere 17 prediyabet tanısı almış hastadan Ramazan öncesi, Ramazan sonrası ve Ramazan bitiminden 5 ay sonra kan ve gaita örnekleri toplanmıştır. Toplanan kan örneklerinden lipit ve glukoz ile ilgili parametrelere bakılmış, gaita örneklerinden ise mikrobiyota değişimi yeni nesil sekanslama yöntemi ile incelenmiştir. Sonuç olarak Ramazan orucunun hastaların glukoz, HbA1c, HOMA-IR gibi parametrelere olumlu etkileri olmadığı ancak LDL, HDL, total kolesterol, trigliserit gibi yağ metabolizmasıyla ilgili parametrelere olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Mikrobiyota analizi sonucunda Ramazan bitiminde öncesine göre anlamlı bir değişim görülmemiş olmasına rağmen probiyotik potansiyeli olan *Eubacterium hallii* gibi bakteri türlerinde artış görülmüştür. Uzun süreli açlığın etkilerinin daha net anlaşılabilmesi için, daha fazla katılımcıyla yapılan ve bireylerin daha yakından takip edildiği, belirli bir diyet ve egzersiz programına uygun olarak dizayn edilmiş projelere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışma literatürde uzun süreli açlık, prediyabet ve mikrobiyota konularının birbiriyle olan ilişkisine ışık tutması yönünden bir ilki taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: prediyabet, mikrobiyota, uzun süreli açlık, 16s rRNA analizi.

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF RAMADAN FASTING ON PREDIABETES PATIENTS' MICROBIOTA AND METABOLIC PARAMETERS

Diabetes mellitus is a metabolic disease that is increasing in prevalence day by day. It usually develops due to insulin resistance. In recent years, the development of metagenomic research has led to widespread microbiota analysis. Many studies have focused on the relationship between microbiota and diabetes. In addition, starvation therapy is a topic that is increasingly on the agenda in the treatment of diabetes and the number of publications on therapeutic effects is increasing. In this thesis study, blood and stool specimens were collected before the Ramadan, after Ramadan and 5 months after the end of Ramadan in the patient who had received 17 prediabetes diagnoses to investigate the effect of the longterm hunger on microbiota exchange and blood parameters. Parameters related to lipid and glucose were collected from collected blood samples, and microbiota exchange from stool samples was examined by a new generation sequencing method. As a result, it was found that Ramadan patients had no positive effects on parameters such as glucose, HbA1c, HOMA-IR, and positive effects on parameters related to fat metabolism such as LDL, HDL, total cholesterol, triglyceride. As a result of microbiota analysis, although there was no significant change at the end of Ramadan compared to the preliminary, there was an increase in bacterial species such as probiotic potential *Eubacterium hallii*. In order to better understand the effects of long-term hunger, there is a need for projects designed to fit a specific diet and exercise program, with more participants and individuals being followed up more closely.

This study carries a link in the literature regarding long-term hunger, prediabetes and microbiota relations.

Keywords: prediabetes, microbiota, long-term fasting, 16s rRNA analysis.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus yaşam tarzının değişmesi ve yaşam süresinin uzaması nedeniyle sıklığı giderek artan metabolik bir hastalıktır (1). 2040 yılına kadar yaklaşık 600 milyon kişinin bu hastalıkla birlikte yaşayacağı tahmin edilmektedir. 2015 yılında beş milyon insanın diabetes mellitusa bağlı nedenlerden hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Prediyabet, diyabetin gelişmesinden önceki aşamadır. Diyabet gelişimini önlemek veya yavaşlatmak için subklinik kronik inflamasyonu gidermek ve insülin direncini kırmaya yönelik basit terapötik stratejilere ihtiyaç vardır (2).

Yaşam tarzı değişiklikleriyle doğrudan ilgisi olan diyabetin tedavisinde temel amaç, en erken dönemde metabolik kontrolün sağlanmasıdır. Tip 2 diyabetlilerin 20 yıl izlendiği United Kingdom Diabetes Study (UKPDS) çalışması sonuçlarına göre, metabolik kontrol göstergesi olan HbA1c düzeyinde %1'lik iyileşme sağlanmasıyla diyabetik mikrovasküler komplikasyonların riski %35 oranında azalmaktadır (3). Tip 2 diyabet ve metabolik sendromluların %80-90'ında, bu hastalıklara obezite eşlik etmektedir. Obez diyabetlilerde yağ dokusundan kaynaklanan ve kronik bir inflamasyona neden olan bulgular gösterilmiştir. Uzun süreli açlık ve özellikle orucun, oksidatif hücresel hasarı gidermesi, inflamasyonu azaltması ve vücutta optimal enerji kullanımı sağlayarak hücresel korumayı sağlaması, olası tedavi seçenekleri açısından bu alandaki çalışma sayısını artırmıştır (4). Oruç ve oruç benzeri diyetlerin makromoleküller (nükleik asitler, proteinler, karbonhidratlar ve lipitler) üzerindeki hasarı azalttığı ve model organizmalarda ömrü uzattığı da görülmüştür (5). Metabolik hastalıkların klinik sonuçlarının oluşumunda subklinik kronik bir inflamasyon sorumlu tutulmakla beraber, ramazan orucunun subklinik kronik inflamasyona olan etkisinin varlığı ve boyutları halen tartışmalıdır. Bu etkinin hangi mekanizmalar üzerinden olduğu da henüz yeterince açık değildir.

Son yıllarda insan mikrobiyotası üzerine yapılan bilimsel çalışmalar bağırsak mikrobiyotasındaki homeostatik dengenin bozulması (disbiyoz) nedeniyle subklinik kronik inflamasyonun oluştuğu ve bunun da yağ-glukoz metabolizmasının bozulmasında rol aldığı ileri sürülmektedir (6). Bu düşünce bağırsak mikrobiyota

modülasyonunun, diyabet tedavisinde bir strateji olarak düşünölebileceği tezlerini gündeme getirmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı ramazan orucunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini görmek ve bu etkinin diyabet hastalığının regölasyonunda sebep olduğu metabolik değişmeleri araştırmaktır. İç hastalıkları kliniğine başvuran prediyabet tanısı almış 17 hastadan ramazan öncesi, ramazan sonu ve ramazan bitiminden 3 ay sonra gaita ve kan örnekleri toplanmıştır. Kan örneklerinden total kolesterol, LDL, HDL, trigliserit, açlık kan şekeri (AKŞ), HbA1C, ürik asit, C-peptid gibi parametreler çalışılmıştır. Gaita örneklerinden ise bağırsak mikrobiyotasındaki değişimler, mikrobiyota ve metabolik belirteçlerin ilişkisi 16S rRNA ve ITS (Internal Transcribed Region) ampikon dizinlemesi, biyoinformatik ve istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmayla prediyabetli hastalarda ramazan orucunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi ilk kez araştırılmıştır. Bu bakımdan çalışma özgündür.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkabilen, pankreasın yeterli miktarda insülin üretememesi veya vücudun üretilen insülini kullanamamasından kaynaklanan ve karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasındaki düzensizlik ve buna bağlı oluşan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır (7).

17. ve 18. yüzyıllarda diyabetin obezite ile ilişkisi daha iyi anlaşılır hale gelmiştir. Obez bireylerin önce idrarlarında, sonrasında ise kanlarında glukoz varlığı tespit edilmiştir. 19. yüzyılın sonlarında ise genç yetişkinlerde kısa süreli ketoasidoz oluşması ve yaşlı bireylerde obeziteden sonra ketoasidoz görülmesiyle iki çeşit diyabet olabileceği düşünülmüştür. Tip 1 diyabet pankreasta insülin salgılayan β hücrelerinin yok olması sonucunda insülin üretilmemesinden kaynaklanmaktadır. Genellikle çocukluk çağında başlamaktadır. Hastalar insülin kullanarak kan glukoz dengelerini sağlamaktadırlar (8). Tip 2 diyabet ise insülin direncine bağlı olarak ortaya çıkan ve genellikle insüline bağımlılık gerektirmeyen bir diğer diyabet çeşididir (9). Yapılan çalışmalarda Tip 2 diyabet prevalansının son 30 yılda hızla yükseldiği belirtilmiştir (7).

4.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitusun Epidemiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre diyabet hastalarının yarısı hastalıklarının farkında değildir. Erken tanı, diyabette oluşabilecek komplikasyonları önlemek için en iyi şanstır (10). Dünyadaki diyabetli hasta sayısı 2013 yılı itibariyle 382 milyon iken, 2035 yılında bu sayının %55 oranında artarak 592 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (10). Dünya sağlık örgütünün (WHO) 2016 verilerine göre 422 milyon yetişkin diyabet hastasıdır. 2012 yılında 1,5 milyon ölüm diyabetten kaynaklanmıştır (7). Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP) 2013 verilerine göre Türkiye genelinde 20 yaş ve üzeri 26499 kişi incelenmiş olup, tip 2 diyabet sıklığının önemli derecede arttığı ve %13,7'ye

yükseldiği belirtilmiştir (11).

4.1.2. Tanı

Glukoz toleransı; normal glukoz homeostazi, Diabetes Mellitus, bozulmuş açlık glukozu ve bozulmuş glukoz toleransı olarak 4 kategoride sınıflandırılabilir (12).

2016 yılında düzenlenen Amerikan Diyabet Derneği'nin (ADA) diyabet tanı kriterleri şunlardır:

1. Diyabet semptomları ile beraber günün herhangi bir saatinde ve son yenen yemekten sonra geçen zaman dikkate alınmaksızın plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL ($\geq 11,1$ mmol/L) olması veya
2. En az 8 saat açlık sonrası plazma glukozunun 2 kez ≥ 126 mg/dl ($\geq 7,0$ mmol/L) olması veya
3. Oral Glukoz Toleransı Testinde (OGTT) 2. saat plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/L) olması veya
4. HbA1c değerinin $\geq \%6,5$ olması.

Bozulmuş Glukoz Toleransı ve Bozulmuş Açlık Glukozu:

Açlık plazma glukoz düzeyi ;

< 100 mg/dl (<5.6 mmol/l) = Normal glisemi

$100-125$ mg/dl ($5.6-6.9$ mmol/l) = Bozulmus açlık glukozu (BAG)

≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) = Diabetes mellitus

75 gr. OGTT'de 2. Saat plazma glukoz düzeyi;

<140 mg/dl = Normal Glisemi

140-199 mg/dl = Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT)

≥200 mg/dl = Diabetes Mellitus

Diyabet Riski Yüksek:

HbA1c: %5,7- %6,4

Uluslararası Diyabet Uzmanlar Komitesi, 2008 yılında diyabet tanısı için HbA1c düzeyini %6,5 olarak belirlemişlerdir (13).

4.1.3. Diabetes Mellitus'un Patogenezi ve Evreleri

Diyabet için en önemli risk faktörleri yaş, obezite, ailenin sağlık öyküsü, fiziksel inaktivite, yüksek enerjili ve yüksek yağ içerikli beslenme düzeni, düşük miktarda sebze-meyve tüketimi olarak sıralanabilir (14).

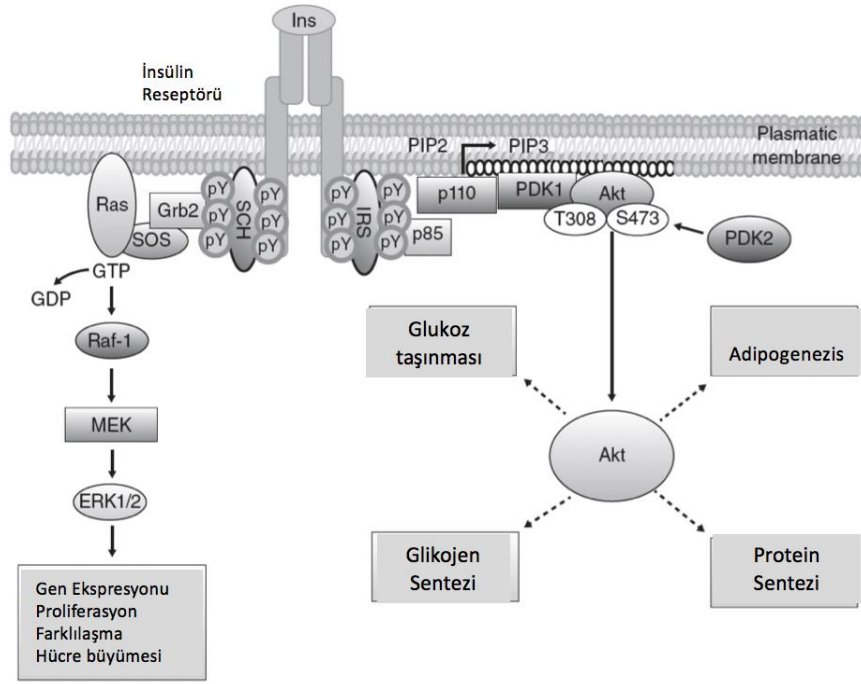
Tip 2 diyabet hem genetik hem de edinilmiş faktörlere bağlıdır. Patogenezinde beta hücre disfonksiyonu ve insülin direnci rol oynar (15). Tip 2 diyabetin gelişmesindeki temel neden insülin direncidir. İnsülin direnci genetik yatkınlığı olan bireylerin yaşam tarzı değişiklikleriyle ortaya çıkan ve zamanla insülin salgılanmasının azalabilmesiyle seyreden bir tablodur (16). İnsülin direnci sonucu postprandiyal glukoz seviyesi artar. Daha sonra preprandiyal glukoz seviyesinde de artış olur. Yetersiz insülin salınımı glukagon salgısının artmasına, bu da hepatik glukoz üretiminin artmasına neden olur. İnsülin direnci lipolize neden olur ve vücutta yağ asidinin artışıyla sonuçlanır. Karaciğerde yağ akışının artması da hücrelerde insülin duyarlılığının ve insülin salgılanmasının azalmasıyla birlikte hepatik glukoz üretiminin artmasına neden olmaktadır. Gelişen kronik hiperglisemi, uzun dönemde çeşitli organlarda (özellikle göz, böbrek, sinir sistemi, kalp ve damar sistemi) hasara veya fonksiyon bozukluğuna sebep olabilmektedir (16).

4.2. İnsülin Direnci

4.2.1. İnsülin Metabolizması

İnsülin, tüm vücut fonksiyonunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen ve 51 aminoasitten oluşan bir peptittir (6). Pankreasın β hücrelerinden salgılanmaktadır. İnsülinin işlev görebilmesi için hücrelerde integral membranda bulunan glikoprotein yapıdaki reseptöre bağlanması gerekmektedir (17). İnsülinin direnci; obezite, tip 2 diabetes mellitus (DM) gibi patofizyolojik durumların gelişmesinde önemli işlevleri bulunduğundan dolayı özellikle karaciğer, kas ve yağ dokuları üzerindeki metabolik etkileri çok önemlidir. İnsülinin asıl görevi hücreye besin ögesi alımını, kullanımını ve depolanmasını kontrol etmek, kandaki glukozun özellikle kas ve yağ dokusundaki hücreler tarafından alınarak glikojen ve trigliserite dönüştürülmesini sağlamaktır. Ayrıca karaciğerde glukoneogenez, glikojenoliz ve ketogenezini inhibe ederek, çoğunlukla kas dokuda protein sentezini sağlar (18,19).

İnsülin çoğu zaman iki ana yolla aktive olarak işlev görmektedir (Şekil 4.3.1.). Bunlardan ilki metabolik aktivitelerden sorumlu olan fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/Akt yolağı, ikincisi ise gen ekspresyonunu ve insülinle ilgili mitojenik aktiviteleri düzenleyen mitojen-aktivasyon protein kinaz yolağı (MAPK/Ras)'dır (20). PI3K/Akt yolağı glikojen sentezi, glukoz transportu, adipogenez ve protein sentezi gibi metabolik faaliyetleri düzenlemektedir. MAP/Ras yolağının aktivasyonu ile gen ekspresyonu, hücre büyümesini, farklılaşmasını ve çoğalmasını düzenler (21).



Şekil 4.2.1. İnsülin reseptör sinyal yolları (18).

Hücresinin homeostazını sağlayan reseptör düzeyinde birçok farklı mekanizma vardır. Bunlar; GLUT-4, PI3K, Akt yollarını da içeren insülin reseptör substratı (IRS) ve daha alt basamaklarda yer alan proteinlerdir (22).

4.2.2. İnsülin Direnci

İnsülin direnci; pankreasın beta hücrelerinden üretilen ve peptid yapıda olan insülin hormonuna, hücrelerin normal yanıt veremedikleri bir durumdur (18,23). Moleküler düzeyde insülin direnci, bu hormonun sinyal yollarındaki değişikliklerinin, reseptörün veya daha alt basamaklarında yer alan efektör proteinlerinin mutasyonları ya da transkripsiyon sonrası modifikasyonları sebebiyle oluşur (18). İnsülin direncini birçok iç ve dış faktör etkilemektedir. İçsel hücre sinyal yolları arasında mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, oksidatif stres ve endoplazmik retikulum (ER)

stresi, adipokinler ve yağ asitleri düzeylerindeki değişiklikler ve metabolik dokudaki inflamasyon varlığı insülinin periferik etkilerini düzenleyen baskın dışsal mekanizmalardır (24).

İnsülin direnci ve inflamasyon: İnflamasyon, fiziksel, kimyasal veya biyolojik agregasyonları kontrol etmek için oluşan fizyolojik bir yanıttır. Bu yanıt sonucunda dolaşımdaki beyaz kan hücreleri (White blood cell,WBC) ve proinflamatuvar sitokinler artmaktadır (25). Obezitenin karaciğer, kas ve yağ dokularında düşük düzeyde inflamasyonu tetiklediğine ve insülin direncine sebep olduğuna dair klinik ve deneysel çalışmalar mevcuttur. Obezitede, adipoz hücre sayısı ve büyüklüğünde artış meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak da proinflamatuvar sitokinlerin ve adipokinlerin salgılanması, aynı zamanda ortaya serbest yağ asitlerinin (SYA) çıkması sebebiyle lipit birikimi olmaktadır. SYA ve proinflamatuvar sitokinler, hepatik ve kaslı dokular gibi metabolik dokular üzerinde etkide bulunarak lipit metabolizmasının yanı sıra inflamatuvar cevabı modifiye eder, dolayısıyla metabolik sendroma katkıda bulunurlar. Obezitenin, obeziteye yanıt olarak sitokin üretimine ve salgılanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan yağ dokusu makrofaj infiltrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (25,26).

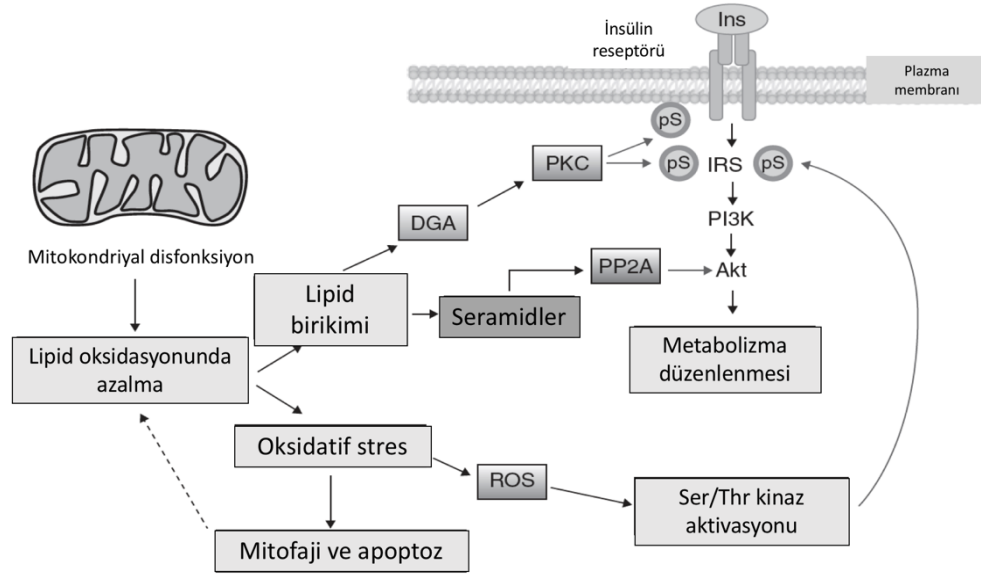
Adipoz dokuda makrofajlar tarafından resistin, tümör nekrosiz faktör a (TNF-a), interlökins (IL) 6, 18 ve 1 β , monosit kemoatric protein 1 ve Ang II salgılanmaktadır (27).

İnsülin direncinde mitokondri disfonksiyonu: Son birkaç yıldır mitokondrideki değişikliklerin insülin direnciyle ilişkili olabileceği öne sürülmüş, ancak tam olarak hangi mekanizmalarla etkilediği tartışma konusu olmuştur (18). Farklı araştırmacılar tarafından tartışmalı olmasına rağmen mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun tanımı genelde, karbonhidrat ve lipit dahil olmak üzere sübstratların azalması sonucunda oksidatif fosforilasyondaki genel azalmayı işaret etmektedir. Bunun sonucunda mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, organelin biyogenezinde azalma, mitokondrideki protein içeriğinde azalma ve oksidatif sürece katılan enzim aktivitesinde azalmanın sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.

Mitokondri; yağ asitleri, glukoz oksidasyonu ve metabolizması için birincil organel olduğundan, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun, insülin direnci gelişmesini destekleyen serbest yağ asidi ve lipid birikimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (28). Serbest yağ asidindeki artış seramid ve diaçilgliserol (DG) seviyelerinde artışa sebep olarak insülin sinyalini inhibe etmektedir (Şekil 4.3.2.). Farelerin karaciğer ve iskelet kas dokusundaki IRS-1 ve IRS-2 gibi insülin sinyalinin çeşitli bileşenlerindeki genetik manipülasyonlarla, insülin direnci ve glukoz intoleransı oluşturulması, mitokondri seviyesinde azalmaya, mitokondriyal fonksiyon kontrolü ve biyogeneze katılan genlerin değiştirilmiş düzenlemesi ve oksidatif fosforilasyon ve ATP seviyesinde değişiklik olduğunu göstermiştir (29,30). FoxO1, IRS-1 ve IRS-2 knock-out farelerde aktiftir. Ancak FoxO1, IRS-1 ve IRS-2 genlerinin üçünün de knock-out yapıldığı farelerde mitokondri fonksiyon bozukluğu gelişmemiştir. Bu sonuca göre FoxO1'in, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile ilgili genlerin düzenlenmesinden sorumlu olduğu düşünülmüştür (29).

Serbest yağ asitlerinin katabolizması sonucunda fazla miktarda ATP üretilmektedir. ATP seviyesi çok fazla miktarda ise, insülin kaynaklı glukoz alımını azaltmak için adenosin monofosfat (AMP) ile aktive olan, AMP-kinaz ATP üretimini azaltır (31).

Mitokondriden üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS), tip 2 diabetes mellitus patogenezinde ve diyabetin uzun dönem komplikasyonlarında önemli bir rol oynadığı konusunda deneysel kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır.



Şekil 4.3.2. İnsülin Direnci ve Mitokondriyal Disfonksiyon (18).

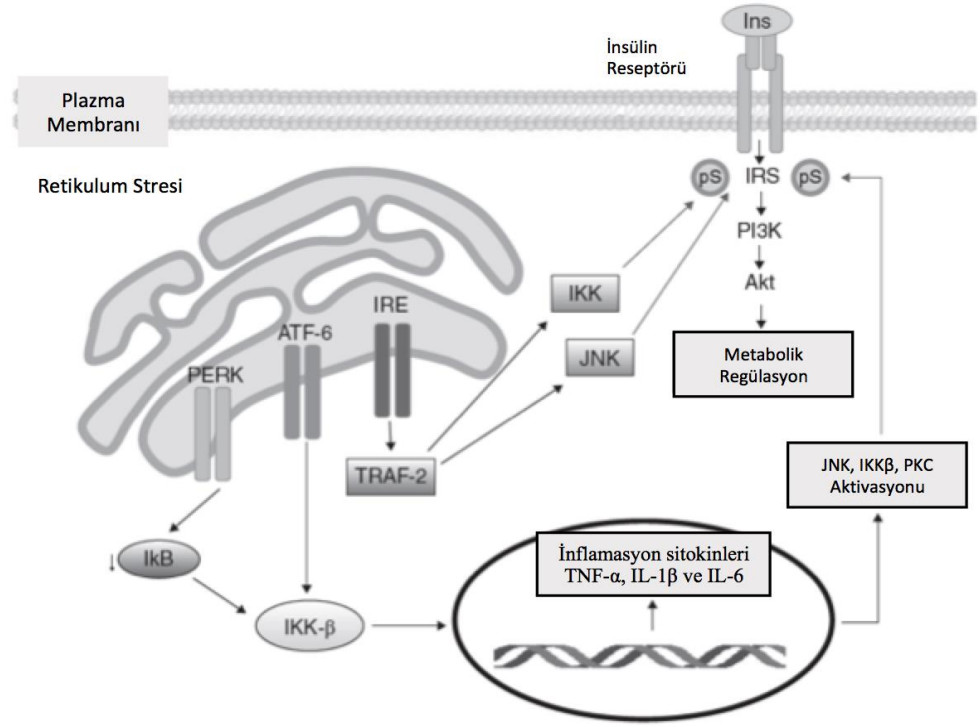
ROS oluşumu, mitokondriyal DNA oksidatif hasarı, protein birikimi ve lipit peroksidasyonu da dahil olmak üzere mitofajiye sebep olabilecek veya yüksek düzeyde stresten apoptoza kadar hücrenel hasara sebep olabilecek birçok farklı duruma öncülük eder. Mitofaji sonucunda mitokondri sayısı azalır ve subsrattaki oksidasyonun azalışına bağlı olarak lipit birikimi gözlemlenir. ROS oluşumu, pankreastan insülin salınımı ve insülin duyarlılığını etkilemesinin yanında, IKK- β , JNK ve PKC de dahil olmak üzere Ser/Thr kinaz aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Ser/Thr aktivasyonu IRS proteinlerinin fosforilasyonunu artırarak insülin direncine sebep olmaktadır (28,32).

İnsülin Direncinde Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi: Endoplazmik retikulum (ER) birçok hücrenel fonksiyonda görevlidir. ER lümeninde yüksek oranda Ca^{2+} bulunur çünkü lümen, disülfid bağlarının oluşumu ve salgılanan ya da hücre yüzeyinde bulunan proteinlerin katlanması için kritik olan oksidatif bir ortamdır (33). Glukoz yoksunluğu, proteinlerin taşınmasındaki azalma, Ca^{2+} deposunun azalması gibi çeşitli sorunlar ER stresi olarak adlandırılmaktadır (33,34). ER stresine ve yanlış katlanmış proteinlere karşı telafi edici bir mekanizma olarak organelde yanlış

katlanmış protein cevabı (UPR) olarak bilinen bir mekanizma aktif olur. Bu mekanizma protein sentezini inhibe ederek hem şaperon ve kalsiyum seviyelerinin artışı hem de ER proteinlerinin degradasyonunu sağlayarak ER homeostazının yeniden kurulmasını sağlar (35). UPR 3; stres sensör kinazı aktive eder (Şekil 4.3.3.); protein kinaz RNA-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), inositol-bağımlı kinaz/endoribonükleaz 1 (IRE-1) ve yanlış katlanmış proteinleri tespit edip UPR'yi aktive eden aktivasyon transkripsiyon faktörü 6 (ATF-6) stres sensör kinazı aktive etmektedir (Şekil 4.2.3.) (36).

Yapılan birçok çalışma ER stresi, inflamasyon yanıtı ve insülin direnci arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir. PERK yolağının aktivasyonu, NF- κ B inhibitörü (I κ B) translasyonunu bastırarak NF- κ B aktivasyonunu desteklemektedir (37,38). Bu durum inflamatuvar yolaklarda yer alan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi inflamasyon sitokinlerinin ve çeşitli genlerin ekspresyonunu teşvik ederek JNK, IKK- β PKC- θ serin kinazları aktive eder (39,40). Bu kinazların aktivasyonu, reseptör veya insülin direncine yol açan Ser/Thr rezidülerinde bulunan IRS-1'lerin fosforillenmesini sağlar. IRE kinaz, TNF-a reseptör-ilişkili faktör 2 (TRAF-2) ile etkileşime girerek IRS-1'i fosforlayan IKK- β ve JNK aktivasyonunu sağlar. Bu fosforilasyon, IRS'nin Tyr fosforilasyon basamağında azalmasıyla ilişkilidir. Bu basamak PI3K/Akt ve MAP kinazların yolaklarında diğer sinyalleşme proteinleriyle ilişkisini azaltır (36,41,42).

Obezite ile ilgili yapılan birkaç hayvan çalışmasında, karaciğerde, pankreasın β hücrelerinde, beyinde ve adipoz dokuda retikulum stresi gözlenmiştir (42,43). Ayrıca obez bireylerin karaciğer ve adipoz dokularında da bu durum tespit edilmiş, ancak cerrahi girişimle kilo kaybına uğrayan hastaların ER stresi normal seviyeye ulaşmıştır (44,45). Farklı hayvan modellerinde protein veya kimyasal şaperonların kullanımı insülin duyarlılığında bir artışa işaret eden ER stresini azaltır (46,47). Örneğin, şaperon proteininin oksijenle düzenlenmiş ekspresyonu hiperglisemi ve insülin direnci durumlarını azaltır (47,48).



Şekil 4.2.3. Retikulum stresi ve insülin direnci gelişmesindeki rolü (18).

Son yıllarda, sarko/endoplazmik retikulum Ca^{+2} (SARCA) pompasının ekspresyon seviyesindeki değişimlerin, sitozolden kalsiyumun ER'ye pompalanması ve daha sonra geri pompalanmasının; ER stresi gelişiminde ve insülin direncinin gelişmesinde ilişkisi olduğunu göstermiştir (49). Yapılan bir çalışmada, obez fareler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, obez grupta SERCA pompa ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (50). Bir başka çalışmada ise diyabet hastalarının, SERCA ekspresyonunu artıran çeşitli ilaçlarla tedavi edildiklerinde hiperglisemi düzeylerinde azalma görülmüştür (51). Tüm bu veriler SERCA pompa miktarının azalması ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğunu ve ER fonksiyon bozukluğunun metabolik bozulmaya önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermektedir (18).

4.3. Prediyabet

4.3.1. Prediyabetin Tanımı

1997-2003 yılları arasında Diyabetes Mellitus Tanı ve Sınıflandırma Uzman Komitesi glukoz seviyesi diyabet ile eşleşmeyen ancak normal düzeyden yüksek seyredenler için “prediyabet” grubunu belirtmiştir. Prediyabet, bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve/veya bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve/veya HbA1c %5,7-6,4 (39-47 mmol/mol) arasında olan bireyler için kullanılmaya başlanmıştır (12).

4.3.2. Prediyabetin Prevalansı ve Önemi

Amerika’da yetişkinlerin %40’ında hiperglisemi, %30’unda ise prediyabet görülmektedir. Türkiye’de yetişkinlerde ise 1997-98 yıllarında %6,7 oranında BGT görülmekteyken, 2010 yılında bu oran %8,2’ye yükselmiştir (11,52). BGT varlığında, diyabet gelişim riski 5-8 kat artmaktadır. Ayrıca bu hastaların %30’unda 10 yıl içerisinde aşikar diyabet gelişme ihtimali vardır (53).

4.3.3. Prediyabetin Önlem ve Tedavisi

Toplumda çok sık görülen prediyabeti olan kişilerde DM ve kardiyovasküler hastalık riski artmıştır ve bu kişiler önleme programlarının hedefidirler. Diyet ve yaşam tarzı değişimi ile kilo verme prediyabet için ilk etap tedavi seçenekleridir. Bu değişiklikler yaşam boyu devam ettirilmeli ve düzenli olarak takip edilmelidir. Prediyabetik kişiler yoğun yaşam tarzı değişimi programına alınmalıdır (54). Bu yöntemlere ek olarak etkili ilaçlar da önerilmiştir (55).

4.4. Açlık Fizyolojisi ve Etkileri

Vücuda veya organizmaya alınan kalori fazla olduğunda, alınan fazla enerji metabolizmanın anabolik fazında glukojen, yağ ve protein şeklinde depolanır. İnsülin, kontrainsülinler hormonlara karşı anabolik faza aracılık eden birincil hormondur. Bu faz yaklaşık 4-5 saat sürer. Yemekten 4-5 saat sonra ise katabolik faz başlar. Katabolik fazda kontrainsülinler hormonlar görev almaktadır ve bu fazda

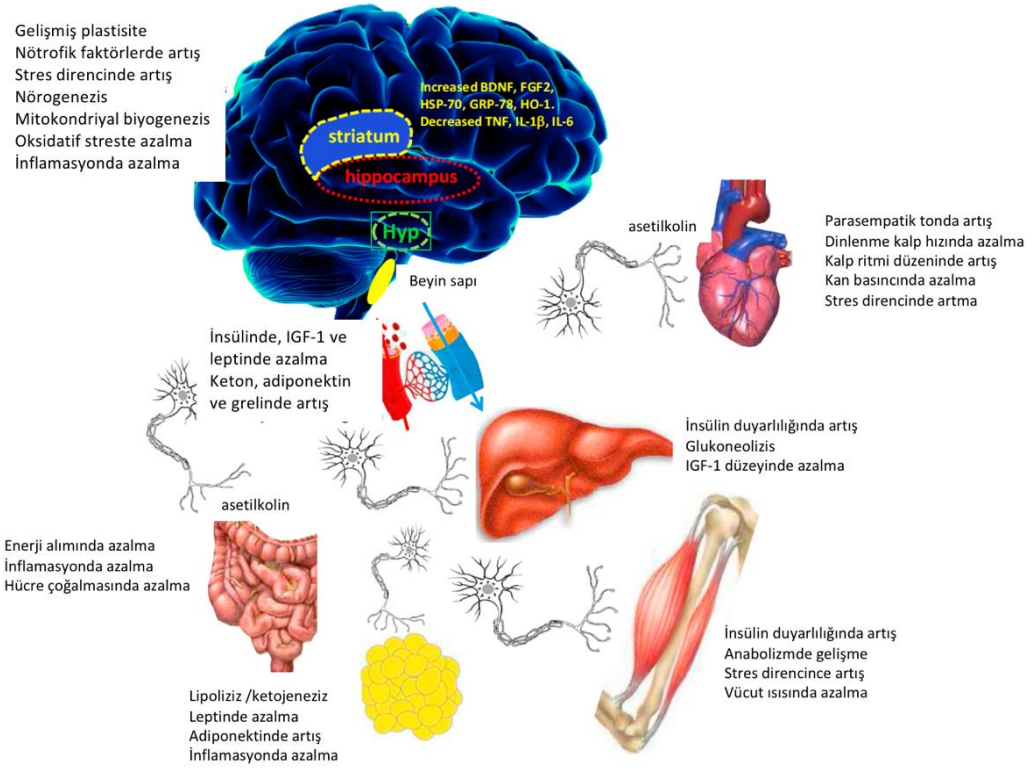
glukagon birincil hormondur. Karaciğer bu sırada kaslardan gelen piruvat ve laktat ile ayrıca adipoz dokudan gelen gliserolü kullanarak glukoneogenez yoluyla glikoz oluşturmaya çalışmaktadır. Adipoz dokulardaki hormona duyarlı lipoprotein lipaz enzimi aktifleşir ve depolanan TG’i uzun zincirli yağ asitlerine ve gliserole hidrolize eder. Oluşturulan uzun zincirli yağ asitlerinin %70lik kısmı doğrudan kullanılırken, %30’luk kısmı karaciğerde keto-asetoasetik asit ve β hidroksil bütirik asite oksitlenir (56). İnsan vücudunun açlığa uyum yanıtı 12-24 saatlik açlık sonunda serum glukoz düzeyinin düşmesi ve hepatik glukojen tüketiminin artması ile olur. Sonrasında enerji kaynağı olarak keton cisimcikleri ve serbest yağ asitleri kullanılır. Hepatik glukojenin tüketiminden sonra glukozun yaklaşık 80 g/gün kadarı keton cisimleri, yağ kaynaklı gliserol ve aminoasitlerden oluşturulan glukoneogenezle karşılanmaktadır ve çoğunluğu beyin tarafından kullanılır (57).

Diyet içeriği ve kalori düzeyi, yaşlanma ve yaşla ilgili hastalıkların gelişmesini etkileyen kilit faktörlerdir. 48-120 saat süren uzamış açlık, insanlarda ve farelerde toksinlere karşı hücre direncini artıran yolları harekete geçirir. Diyet kısıtlamasının büyüme faktörlerinin sinyalini azaltarak oksidatif strese karşı direnci arttırdığı ve makromoleküler hasarı azaltarak model organizmalarda ömrü uzatıcı etkilere sahip olduğu belirtilmektedir(58).

Kalori kısıtlaması veya açlığın mayalar, nematodlar, sinekler, örümcekler, balıklar ve memeliler de dahil geniş bir yelpazedeki organizmalar üzerinde olumlu etkilerinin gözlenmesine karşın, insanlarda diyet kısıtlamasının sürdürülmesindeki güçlük, pratik terapötik kullanımını ciddi ölçüde kısıtlamaktadır (59).

Uzun süreli açlık dolaşımdaki IGF-1 seviyesini azaltır. Ayrıca IGF-1 eksikliği olan farelerin kemoterapinin toksik etkilerine karşı daha korunaklı oldukları görülmüştür. Açlık siklusları kemoterapinin oluşturduğu immunsupresyonu ve mortaliteyi azaltarak ve lenfositleri kemotoksiteden koruyarak olumlu etkiler göstermektedir. Açlık, IGF-1/PKA etkinliğini azaltarak, hemopoetik kök hücre üzerinde prorejenaratif etki göstermektedir (60). Üç gün veya daha uzun süreli oruç tutan insanlarda, dolaşımdaki insülin ve glukoz düzeylerinde %30’dan fazla azalma gözlenmiştir. Memelilerde ana büyüme faktörü olan IGF-1 düzeylerinde de hızlı

düşüş gözlemlenmiştir. IGF-1 ve insülin, kanser ve hızlandırılmış yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir (58).



Şekil 4.4.1. Açlığın sinir ve endokrin sistemler üzerindeki etkileri (57).

DNA hasarı olan hücreler büyük olasılıkla apoptozise gider. Açlık DNA hasarını azaltmanın yanında prekanseröz hücrelerin ölümünü de tetikleyerek antikanserojen etki göstermektedir (61).

Oruç, insanlığın varoluşundan beri olan bir ibadettir. Bütün dini inanış ve kültürlerde içeriği ve uygulanış şekilleri farklı olsa da ibadet gayesi ile tutulan oruçlar vardır. Oruç, hem fiziksel hem ruhsal faydalar sağlayan ve birçok dinde önemli yeri olan bir

uygulamadır (62).

Aralıklı oruç tutmanın bilimsel bir tedavi şekli olarak kullanılması 1940'lerden beri bilinmekte olup, günümüzde de oruç ve oruç benzeri diyetler ile diyet kısıtlamalarıyla ilgili çalışmalar artmaktadır (63). Antik çağlarda da açlık epilepsinin tedavisinde ketojenik diyet olarak uygulanmıştır (64). Yapılan çeşitli hayvan çalışmalarında oruç tutmanın kanser, nörolojik hastalıklar, sirkadiyen ritim bozukluklarına ve bunların yanında uzun ömürlü olma üzerinde de olumlu etki gösterdiği belirtilmiştir (65).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar orucun adaptif hücresel yanıtındaki rolü, oksidatif hasarı gidermesi, inflamasyonu azaltması optimal enerjiyi kullanarak hücresel korumayı sağlaması üzerine yoğunlaşmıştır (57).

İnsanlarda, aralıklı oruç veya kalori kısıtlamasının (haftada 2 gün 500 kkal/gün) insülin, glukoz, CRP ve kan basıncı üzerine faydalı etkilere sahip olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Aralıklı kalori kısıtlaması (2710 kJ/gün, 2 gün/hafta) ve devamlı kalori kısıtlaması (6276 kJ/gün, 7gün/hafta) karşılaştırıldığında, deney grubundaki obez hastaların metabolik parametreler açısından birbirine yakın sonuçlar ortaya koyduğu belirtilmiştir. Aralıklı kalori kısıtlaması, açlık insülin ve insülin direnci için daha etkili bulunmuştur ($p=0.046$) (66).

Günlük kalori kısıtlaması ile pankreas işlevlerinin düzelmesi, trigliserit (TG) birikiminin azalması ve T2DM'nin iyileşmesine yönelik çeşitli veriler yayınlanmıştır. Günlük 600 veya daha az kalori alımının, birçok tip 2 diabetes mellitus (tip 2 DM) hastası için metabolik parametreler, plazma insülin düzeyi, insülin duyarlılığını iyileştirici ve diyabetik komplikasyonların gelişimini önleyici etki gösterdiği ise yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (67).

Oruç ve oruç benzeri diyetlerle ilgili çalışmalarda karaciğer, böbrek, kalp ağırlıkları ve genel vücut ağırlığının azaldığı görülmüştür. Beyin, dalak ve akciğer ağırlıklarında bir azalma tespit edilmemiştir. Tekrar eskisi gibi beslenildiğinde ise ağırlık kayıplarının diyet öncesi durumlarına geri döndüğü gözlemlenmiştir (5).

4.5. Ramazan Orucu ve Prediyabet

Ramazan orucunun diyabet üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda değişken sonuçlar ortaya konmuştur. Ramazan ve diyabet epidemiyolojisi (EPIDIAR) adı altında 13 islam ülkesinde yapılan çalışma sonuçlarına göre, Tip 1 diyabetli bireyler (T1D) 'in yaklaşık %43' ve Tip 2 diyabetli bireyler (T2D)'in yaklaşık %79'unun ramazan ayında oruç tuttukları bildirilmiştir (68).

Müslüman diyabetik hastalarla yapılan bir çalışmada, Ramazan ncesi kontrolsüz glisemik düzeyi olanlarda (HbA1c >7%), ramazanda HbA1c'de bir düşüş görüldüğü ve en yüksek etkinin %0 >HbA1C düzeyinde görüldüğü bildirilmiştir. Sistolik kan basıncında minimal bir düşme, LDL ve TG düzeylerinde ise önemsiz bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca hastaların kullandıkları antidiyabetik ajan tiplerinin glisemik değişiklikleri etkilemediği grlmştir (69).

Koroner anjiyografi geçiren hastalarla yapılan bir çalışmada, düzenli olarak oruç tutan hastaların diyabet prevalansı, oruç tutmayanlara göre daha düşük bulunmuştur (70).

Ramazan ayında herhangi bir diyet kısıtlamasına tabi tutulmasa da, oruç tutan hastaların BKİ ve vücut ağırlıklarında azalma, insülin duyarlılıklarında artış ve plazma adiponektin düzeylerinde bir düşüş tespit edilmiştir (71).

Tip 2 diyabet tanısı almış obez kadınlarda yapılan bir başka çalışmada ramazan ayında HbA1c oranının %0,8 oranında düzelmesine karşın LDL ve TG düzeylerinde artış gözlemlenmiştir (72).

Ramazan ayındaki orucun vücut ağırlığı ve fruktozamin düzeyi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada vücut ağırlığında ortalama düşüş 0.7 ± 1.3 kg ve fruktozaminde ise 2.29 ± 3.09 mmol/L olarak bulunmuştur (73).

Ramazan ayı boyunca tutulan orucun inflamatuvar koşulları olumlu etkilediği hipotezini araştıran kesitsel bir çalışmada, oruç tutmanın inflamasyonu azalttığı, kanser riskini düşürdüğü ve ömrü uzattığıyla ilgili sonuçlar belirtilmiştir. Proinflamatuvar sitokinler IL-1 β , IL-6 ve TNF α ; sistolik ve diastolik kan basıncı, vücut ağırlığı ve vücut yağ yüzdesi Ramazan ayında, ramazan öncesine kıyasla

önemli ölçüde düşük bulunmuştur (74).

Toplamda 150 kişinin katıldığı bir çalışmada, hipoglisemi atağı %10, hiperglisemi ise %3,3 olarak bildirilmiş ve bu hastaların hastaneye yatışlarına gerek duyulmamıştır. Ramazan öncesi doktora gidilmesi ile hipoglisemi atağı arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (75).

4.6. Bağırsak Mikrobiyotası (BM)

Hipokrat “bütün hastalıkların başlangıcı bağırsaktır” meşhur ifadesiyle insan vücudundaki pek çok hayati homeostatik fonksiyonda esas rolün bağırsakta olduğunu vurgulamıştır (76). Teknik ve kavramsal ilerlemeler sayesinde bağırsak mikrobiyotasının (BM) taksonomik kompozisyonu ortaya çıkarılmıştır. Bu sayede mikrobiyotanın metabolik kapasitesinin ve immünomodülatör etkinliğinin anlaşılmasında hızlı gelişmeler sağlanmıştır. Bu kazanımlar sayesinde mikrobiyotanın insan sağlığı ve hastalıklardaki rolü daha kolay açıklanabilmektedir (77).

İnsan bağırsak mikrobiyotası yaklaşık 10^{13} - 10^{14} adet mikroorganizmadan oluşmaktadır. Toplamda 500-1000 tür içermekte ve en az insan genomunun sahip olduğu genlerin 100 katı kadar gene sahip olduğu bilinmektedir (78). Ayrıca 40 m^2 kadar bir yüzey alanını oluşturması ile de vücudun dış ortam ile yüzleşen en önemli temas noktasıdır (79).

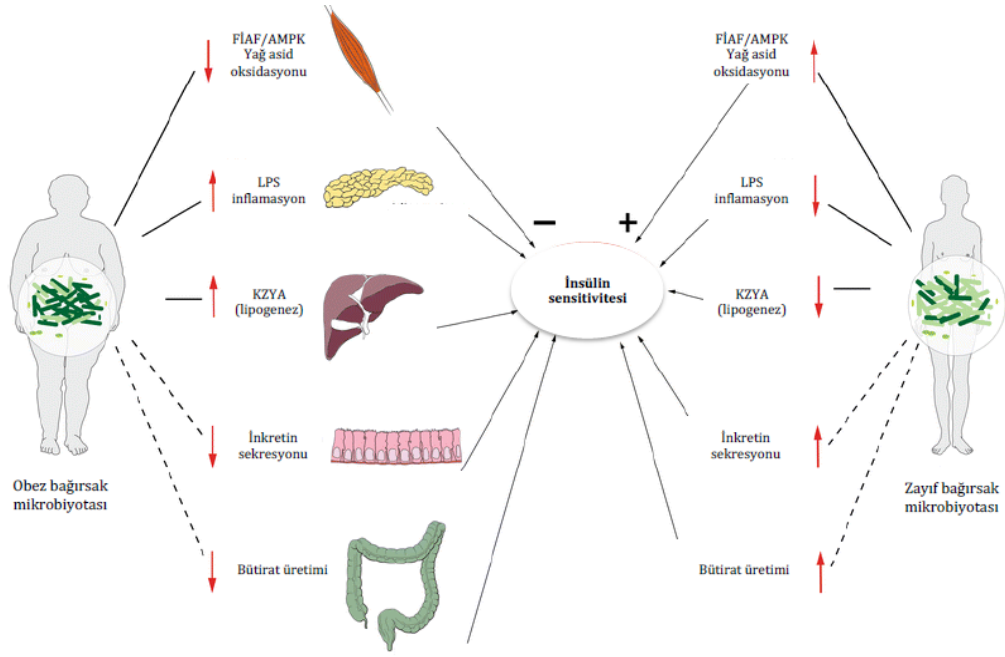
BM'nin kolonizasyonu doğumla başlamaktadır ve ilginçtir ki yeni doğanların bağırsaklarındaki mikroorganizmaların kolonizasyon türü doğumla ilişkilidir. Vajinal yolla ve sezaryenle doğan bebeklerin BM'da farklılıklar vardır (19).

BM, K vitamini sentezine katkı sağlar, intestinal epitel hücreleri üzerinde trofik etki gösterir ve kısa zincirli yağ asitlerinin senteziyle sindirilmeyen besinlerden enerji sağlar. Bunun yanında patojenlerin büyümesini ve çoğalmasını inhibe eder, intestinal bariyerin bütünlüğünü korur ve mukozal immüniteye katkıda bulunur (78,80).

Bağırsaklarda büyük miktarda var olan antijenlerin konak tarafından tolere edilebilmesi, BM ile immün sistem arasındaki karşılıklı koordinasyonla sağlanır

(83). Sağlıklı bireylerin bağırsak mikrobiyotasında simbiyotik ve kommensal mikroorganizmalar fırsatçı/patojenik denge halindedir. Ancak diyet, çevresel faktörler, hastalıklar veya konakçının genetik yapısından dolayı immün sistemle koordineli çalışan simbiyotik mikroorganizma sayısı azalmakta ve inflamasyona sebep olan patojenlerin sayısı artmaktadır. Bu duruma disbiyoz adı verilir ve subklinik inflamasyonun temel nedeni olarak öne sürülmektedir (84).

Karbonhidratlar insan ve mikroorganizmalar için en önemli enerji kaynağıdır. İnsanların ürettikleri enzimler, kompleks karbonhidratları ve bitkisel polisakkaritleri (selüloz gibi) parçalayamazlar. Diyet lifi gibi kompleks karbonhidratlar, BM tarafından oligosakkaritlere ve monosakkaritlere metabolize edilir, daha sonra asetat, bütirat ve propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)'nin son ürünlerine fermente edilir. KZYA bağırsakta absorbe edilir, bütirat bağırsak epitel hücreleri için enerji kaynağıdır ve asetatla propiyonat karaciğer ve periferik organlara ulaşarak burada glukoneogenez ve lipogenez için substrat olarak kullanılırlar. Enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanında KZYA, histon deasetilaz (HDAC) enzimini inhibe ederek gen ekspresyonunda da görevlidir. Ayrıca GPR41 veya GPR43 gibi G proteini bağlı reseptörler aracılığıyla sinyaller göndererek bağırsak gen ekspresyonunu da kontrol etmektedir. KZYA'nin enerji kaynağı olması inflamatuvar modülatör özelliği, vazodilatör etki göstermesi, bağırsak motilitesini ve yaraları iyileştirici etkisi sayesinde bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkileri vardır (85).



Şekil 4.6.1. Bağırsak mikrobiyotasının konakçı metabolizması üzerine etkileri (86).

Enerji sağlanması ve yağ depolanmasında mikrobiyotanın rolü hakkında doğrudan kanıt, germ-free farelerin bağırsaklarında KZYA düzeylerinin düşük bulunmasıdır. Polisakkarit bakımından zengin ve kalorisi aynı diyetle beslenen konvansiyonel sıçanlarda iki kat daha fazla idrar ve fekal kalori atılımı görülmüştür. BM'nin diyetten ve yağ depolarından enerji sağlamanın rolü farelerde açıkça gösterilmiş olup insanlardaki kanıtların çoğu dolaylı araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Obez insanların nefeslerindeki etanol seviyesi zayıf insanlardan daha yüksek oranlara sahiptir. Bu da artan mikrobiyal enerji üretiminin göstergeleri olan fermentasyon artışı ve fekal KZYA'nın daha fazla olduğunu göstermektedir (87). KZYA'leri nötrofiller gibi bağışıklık hücrelerinde GPR43 sinyali yoluyla inflamasyonu baskılamaktadırlar. İnsülin sekresyonunu artıran ve distal ince bağırsak ve kolondaki enteroendokrin L hücreleri tarafından antidiyabetik etkilere sahip olan glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) hormonunun salgılanmasını da modüle etmektedir (88).

Polisakkaritlerin mikrobiyal fermentasyonu çeşitli tamamlayıcı mekanizmalar yoluyla konağın adipoz dokusunu etkileyebilir, bu sebeple mikrobiyotanın

modülasyonu ve fermentasyon kapasitesi obezite ve diyabeti yönetmek için yeni çözümler sunabilir.

Kolik asit ve kenodeoksikolik asit primer safra asitleridir ve insan karaciğerinde kolesterolden sentezlenir. Diyetteki yağlardan kolesterol eldesinde ve ince bağırsaklarda yağda çözünen vitaminlerin çözünebilir ve emilebilir olmasında rol alırlar.

Primer safra asitleri karaciğerde sentez edildikten sonra glisin ve taurinle konjuge edilerek, safra tuzları olarak safraya atılırlar. Konjuge edilen primer safra asitleri BM yardımıyla dekonjuge ve dehidrolize edilirler. Bu reaksiyonlar sonucunda sekonder safra asitleri oluşmaktadır. Bunlar ileum başta olmak üzere bağırsağın diğer kısımlarında geri emilerek vena porta yoluyla tekrar karaciğere geri gelir. Buna enterohepatik dolaşım denmektedir. Bu sirkülasyonda safra asitlerinin safra tuzlarına dönüşümünde başrolü BM oynamaktadır.

Safra asitleriyle metabolizma arasındaki ilişkide en çok üzerinde durulan konu insülin direnci ve diyabettir. Kontrolsüz diyabeti olan hastalarda total safra asit miktarı ve fekal safra asit atılımının arttığı gösterilmiştir (89).

Bağırsağın çeşitli fonksiyonları BM da dahil olmak üzere bağırsağın fonksiyonel unsurları arasındaki ileri etkileşimlerle düzenlenmektedir. Bu mikroorganizmalar Gİ mukoza geçirgenliğinde önemli rol oynamaktadırlar (76). BM aracılığıyla intestinal permabilite (IP)'nin bozulması, metabolik bozukluklardaki subklinik inflamasyonun başlangıç noktası olarak düşünülmektedir.

BM tarafından kontrol edilen, enteroendokrin hücreler ve endokannabinoid sistemin, İP ve metabolik endotoksemiye kontrol ettiği yapılan çalışmalarda ileri sürülmüştür (90,91). Bu metabolik bozukluklarda, ince bağırsakta bakteriyel aşırı çoğalma (SIBO)'nın arttığı ve bunun sonucunda İP'nin bozulduğu tespit edilmiştir. kemirgen hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, SIBO sonucu claudin, occludin ve zonula occludens-1 olarak bilinen sıkı bağlantılı proteinlerin ekspresyonlarının azaldığı ve bunun sonucunda İP'nin arttığı tespit edilmiştir (92,93). BM, IP'nin artmasıyla lümeninden portal dolaşım yoluyla karaciğere gelen lipopolisakkarid (LPS),

peptidoglikan ve bakteriyel DNA'nın kaynağıdır (94). LPS, Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan ve metabolik hastalıkların gelişiminde rol oynayan güçlü bir proinflamatuvar moleküldür (95). Metabolik bakteriyemi, canlı bakterinin konağa translokasyonudur. Metabolik endotokseminin bir benzeri olan metabolik bakteriyemi, diyabetin bir özelliği olarak da düşünülmektedir (96). Endotoksemi, diyabetin bileşenlerinde olan subklinik inflamasyon, insülin direnci, adipoz doku hiperplazisi ve azalan β hücre fonksiyonuna katkıda bulunmaktadır (94). Özellikle yağlı beslenme, obezite, T2D ve LPS arasındaki ilişki, insan deneklerde yapılan sayısız çalışmalarda gösterilmiştir. LPS ve diğer toksinler proinflamatuvar süreci başlatırlar.

BM'nin ekolojik dengesindeki disbiyoz konakçıda kronik inflamasyonun yanında metabolik dengenin bozulmasına da neden olmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada, konvansiyonel olarak yetiştirilmiş fareler ile steril ortamda büyütülmüş (germ-free) farelerin vücut yağ içerikleri %40 ve gonodal yağ içerikleri ise %47 oranda daha yüksek bulunmuştur. Germ-free farelere konvansiyonel farelerin BM içeriği transfer edilmiş ve iki hafta sonra vücut yağ oranları %60 oranında artmıştır (97). İnsanlarda yapılan araştırmalarda T2D olan bireyler ile sağlıklılar, obez bireyler ile zayıf bireyler karşılaştırıldığında BM kompozisyonlarında farklılıklar bulunmuştur (98,99). Obez farelerin BM içerikleri incelendiğinde Firmicutes filumunda artış ve Bacteroidetes filumunda azalma tespit edilmiştir (81,100). Zayıf ve sağlıklı donörlerden alınan BM'nin metabolik sendromlu bireylere transferiyle insülin direncinde düzelmeye görüldüğü bildirilmiştir (101).

4.7. Proinflamatuvar Süreç

İntestinal permabilitenin artmasından dolayı intestinal lümeninden karaciğere gelen LPS, bakteriyel DNA, doymuş yağ asitleri ve etanol gibi moleküller toll like reseptörlerini (TLR) ligand olarak kullanmaktadır. TLR, memelilerde 13 adet olarak tanımlanmış transmembran proteinleridir. TLR2, TLR4 ve TLR9 nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında (NAYKH) rol oynamaktadırlar (102,103). TLR2 peptidoglikan, lipoteikoik asit ve lipoprotein gibi bakteriyel ürünlerin ligandı olarak işlev görmektedir. TLR2'nin eksikliği diyetle indüklenmiş yağlanmayı, insülin

direncini, hepatosteatozu ve hiperkolesterolemiyi önler. Adiposit hipertrofinin gerilemesiyle de ilişkili olduğu düşünülmektedir (92,104). TLR4, LPS için reseptördür. TLR4 knock-out fareler, LPS ve diyetle indüklenmiş obezite ve insülin direncine karşı korunmuşlardır (92,105). TLR5 reseptörü genetik olarak eksik olan farelerde dislipidemi, hipertansiyon, adipoz doku artışı ve insülin direnci gibi metabolik sendromun özellikleri gelişmez (106). Yüksek yağlı diyetle beslenen yabani farelerde, dolaşımdaki LPS miktarı fazladır, ancak TLR eksik fareler aynı diyetle beslendiklerinde LPS seviyeleri yüksek olmasına rağmen nonalkolik hepatosteatoz daha az görülmüştür (107).

MyD88 metabolik sendromun gelişimi için anahtar moleküldür. MyD88 geninin delesyonu doğrudan BM'nı içeren mekanizmalar yoluyla diyet kaynaklı yağ depolanması, inflamasyon ve diyabete karşı kısmen koruma sağlayabilmektedir (108). Konak bağırsak epiteli MyD88 BM'nın kompozisyonunu kontrol eder ve metabolik bozukluklarla ilişkilidir. MyD88, TLR3 dışındaki tüm TLR'ler için bir adaptör olarak çeşitli inflamatuvar sitokin ve kemokin salgılanmasında gereklidir (109). Bu sitokinler arasında en iyi çalışılmış ve önemlileri TNF- α ile IL-1 β 'dır. TLR-MyD88 sinyal yolağı, nuklear factor- κ B (NF- κ B) ve JNK 'yı aktive eder ve inflamatuvar sitokin ile kemokinleri salgılar. JNK, mitojenle aktive edilmiş proteinkinazların bir üyesidir. Ayrıca NAYKH'nın patogeneğinde, insülin direnci ve obezite gelişiminde merkezi bir yer tutmaktadır (39). TNF- α insülin direnci, yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin salgılanması, hepatosite lipitlerin giriş ve çıkışı ve hepatosit hücresinin ölümüne aracılık etmektedir (110). T2D'li obez hastaların yağ dokularında da artan IL-1 β , MetS için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (111). Yapılan bir hayvan çalışmasında, IL-1 β 'nın bloke edilmesiyle, aterosklerozun şiddetinin azaldığı, IL-1 β reseptör antagonisti yetersiz olan farelerde ise şiddetli steatohepatit geliştiği gösterilmiştir (110).

Hücrelerde lipit toplanması mitokondriyal glutasyonu tüketmekte, bu durum hepatosite ROT üretimini arttırarak apoptozis sinyal yolağını uyarmaktadır. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) kemokini ve onun reseptörü chemokine receptor 2 (CCR2) hepatosite yağ toplanmasını arttırmaktadır. Obezite

ve T2D ile ilişkili steatozda seviyesi yüksek bulunmuş, eksikliği olan hayvan modellerinde steatoz daha az görülmüştür (112). IL-18 intestinal epitel hücrelerinden salgılanan, epitel hücre proliferasyonunu indükleyen ve bu sayede hasar gören epitelin rejenerasyonunu arttırarak bağırsak bariyerinin korunmasına katkıda bulunan bir sitokindir. İlginçtir ki yapılan bir çalışmada, yüksek yağ içerikli diyetle beslenenlerde, bağırsaktaki IL-18 ekspresyonunu azalttığı, buna karşılık MyD88 delesyonunun bu parametreyi normalleştirdiği bulunmuştur. Bu sonuç, MyD88'in delesyonu sonucu IL-18'in arttığı ve bu sayede bağırsak bariyer bütünlüğünün korunduğunu düşündürmüştür (108).

4.8. Uzun Süreli Açlık ve Mikrobiyota

Diyetin enerji miktarı ve besin içeriği insan sağlığının yanı sıra bağırsak mikrobiyotası (BM)'nin bileşimini de etkilemektedir (58). Özellikle farklı genetik kökenli suşlar üzerinde yapılan fare çalışmaları, diyetin BM bileşiminin belirlenmesinde genotipten daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (84).

Bağırsak mikrobiyotası, beslenme değişikliklerinde hızla değişime uğramaktadır. Hayvansal veya bitkisel ürünleri içeren diyetler BM'nin genel yapısını değiştirebilmektedir. Örneğin, lif ve karbonhidrat içeriği yüksek diyetlerle beslenen bireylerin BM'sında *Prevotella* cinsinin dominant olduğu, protein ve hayvansal yağ tüketenlerin ise *Bacteroides* cinsinin dominant olduğu belirtilmiştir (113,114).

Açlık ve protein malnütrisyonunda BM değişimini inceleyen bir hayvan çalışmasında, BM'da Gram negatif enterik çomak seviyesinin arttığı, *Lactobacillus* ve anaerobların ise azaldığı gösterilmiştir. Şaşırtıcı bir biçimde ne açlık ne de protein malnütrisyonunun bakteriyel translokasyonu desteklemediği gösterilmiştir. Hayvanların vücut ağırlıklarının %20'sini kaybettiklerini ve BM ekolojisinin bozulduğunu belgelemişlerdir (115).

Uzun süreli açlığın beş omurgalı sınıfının BM'sı üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada, kolon ve sekum örneklerinden 16S rRNA gen dizilimi

yapılmıştır. Mikrobiyomda açlığa bağlı değişiklikler, konakçı türleri ve bağırsak bölgeleri boyunca farklılıklar göstermiştir (116).

Orucun etkisine karşı BM'nın farklı tepkileri olabilmektedir. Uzun süreli açlık veya besin öğelerinin eksikliğinde, konağın fizyolojisi farklı yanıtlar verebilmektedir. Ayrıca BM'sında bulunan bakteri popülasyonlarının çeşit ve miktarlarında değişimler meydana gelebilmektedir. Örneğin *Akkermansia* cinsi bakterilerin uzun süreli açlığa yanıt olarak piton ve hamsterların mikrobiyotasında görece artmaktadır ve konağın ürettiği mukusu tüketmektedir (115,117).

Yapılan çalışmalarda açlık dönemlerinde deneklerin sağ kalımının arttığı gözlemlenmiştir. Bu sebeple bağırsak mikrobiyotasının açlığa bağlı değişimlerini anlamak önemlidir. Germ-free fareler ve sıçanlar aç bırakıldıklarında konvansiyonel hayvanlara göre daha yüksek mortalite görülmüştür. Aynı şekilde germ-free tavuklar, konvansiyonel tavuklara göre açlığa daha dayanıksız bulunmuştur (120).

Bu sonuçlar, konakların oruç veya açlıkla karşı karşıya kaldıklarında değiştirilebilir enerji kaynaklarının kullanımı veya azot geri dönüşümünü sağlaması için BM'sına ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir. Mikrobiyota yokluğunda sağkalım ve açlık toleransları da azalmaktadır (121).

İnsülin direnci metabolizmasında endoplazmik retikulum stresi ve inflamatuvar sitokinlerin rolü çok büyüktür. ER stresi sonucunda artmış TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri, insülin direncine sebep olan Ser/Thr yolağını aktive eder. Bunun yanı sıra bağırsak mikrobiyotasında oluşan disbiyozis sonucunda kanda artan LPS gibi antijen yoğunluğu proinflamatuvar sitokinlerde artışa sebep olmaktadır. Bu durumda insülin direnci oluşumu tetiklenebilir. Uzun süreli açlıkla ilgili yapılan birçok çalışma sonucunda proinflamatuvar sitokinlerin azaldığı görülmüştür. Bağırsak mikrobiyotasında da değişimlerin meydana geldiği bildirilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında bağırsak mikrobiyotasının ramazan orucu sonucunda olumlu yönde etkilenerek, prediyabet hastalarının klinik parametrelerinde düzelmeye görülmesi hedeflenmiştir.

5. MATERYAL VE METOT

5.1. Etik Beyan, Deney Dizaynı ve Örneklem

Bu çalışmaya Mayıs 2016-Kasım 2016 tarihleri arasında İstanbul Medipol Üniversitesi Vatan Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi İç Hastalıkları polikliniklerinde takip edilen 40-65 yaş arası prediyabet tanısı almış 17 hasta (10 kadın ve 7 erkek) dahil edilmiştir. Hasta grubu HbA1c değerleri ($5.7 \leq \text{HbA1c} \leq 6.4$) olanlar, izole bozulmuş açlık glukozu (IFG)($100 \leq \text{IFG} < 126$), izole bozulmuş glukoz toleransı (IGT)($140 \leq \text{OGTT 2. saat PG} \leq 199$) ve IFG+IGT birlikte olanlardan oluşturulmuştur.

HOMA-IR seviyesi [(açlık plazma glukozu*açlık insülin seviyesi) /405] formülüyle, BKİ (vücut kitle indeksi) ise kilogram olarak vücut ağırlığının metrekare olarak boy uzunluğuna bölünmesiyle hesaplanmıştır.

Çalışma grubuna katılan hastaların dışlanma kriterleri:

1. Bağışıklık sistemini baskılayan ilaçları (örneğin kortikosteroid ve/veya immunsupresif ilaç (NSAID) kullananlar veya bağışıklık sistemi genetik hastalığı olanlar
2. T2D dışında başka kronik hastalıkları olanlar (kanser, allerjik, nöro-psikiyatrik, vs)
3. Son üç ay içinde probiyotik, antifungal ve/veya antibiyotik kullananlar
4. Sistemik ve lokal infeksiyon bulgusu olanlar
5. Yaşamı tehdit edici hastalığı olanlar
6. İnfiltratif hastalığı olanlar
7. İntestinal cerrahi geçirenler
8. Hamile ya da emziren kadınlar

9. Laktoz intoleransı olanlar

10. Barsak hastalıkları olanlar (çölyak, kolitis, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD), Crohn', vs)

11. Alkol ya da keyif verici madde bağımlılığı olanlar

12. Klinisyen tarafından sosyal, medikal ya da psikiatrik nedenlerden çalışmaya alınmasına uygun görülmeyenler.

5.2. Kan Örnekleri

5.2.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmaya katılan bireylerden Ramazan ayı öncesinde son üç gün, Ramazan ayının son üç günü ve Ramazan ayının bitişinden 5 ay sonra olmak üzere 3 seferde gaita örnekleri ve kan örnekleri toplanmıştır.

5.2.2. Biyokimyasal Testler

Kan örneklerinden açlık kan glukozu, ALT, kreatinin, ürik asit, total kolesterol, HDL, LDL, trigliserit (Vitros 350 chemical systems cihazı), HbA1C (Quo/lab ekf daignostic cihazı ile), TSH, fruktozamin, insülin ve spot idrardan ise mikroalbüminörü (l chroma cihazı ile) analizleri yapılmıştır. Analizler İstanbul Medipol Üniversitesi laboratuvarında yapılmıştır.

5.3 Fekal Örnekler

5.3.1. Örneklerin Toplanması

Gaita örnekleri özel olarak steril edilmiş kendinden kaşıklı gaita kaplarında toplanmıştır. Hastalar defekasyon esnasında fekal materyalin dış ortamdan kontamine olmaması için özel tuvalet kağıtları kullanmıştır. Fekal materyal gDNA (genomik DNA) izolasyonu yapılmaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

5.3.2. Genomik DNA İzolasyonu

Fekal materyalden gDNA izolasyonu, Qiagen-QIAamp Mini Stool Kit kullanılarak üreticinin protokolüne uygun şekilde yapılmıştır (Qiagen, Germany). Steril gaita kabında bulunan örnekler tartılarak üzerlerine, örneğin 2 katı ASL+gliserol (%50 v/v) eklenmiş ve homojenize edilmiştir. Homojenize edilen süspansiyondan 450 µL alınarak içerisinde 250 µL zirkonyum boncuk bulunan mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 1000 µL ASL tamponu eklenmiştir. Vorteks ile 15 saniye karıştırıldıktan sonra 70°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası Bead-Bug homojenizatörde 3’er defa 300 Hz’de 30 saniye homojenize edilmiş, örnekler homojenizasyon süreleri arasında 30’ar saniye buz üzerinde bekletilmiştir. Her bir örneğe 1 adet InhibitEX tablet eklenerek oda sıcaklığında inkübe edilmiş bu sayede örneklerdeki PCR inhibitörlerinin absorbe edilmesi sağlanmıştır. Örnekler 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası sıvı fazdan 200’er µL alınarak 2 adet steril mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Her bir tüpe 40 µL lizozim (20 mg/mL) eklenmiş ve 37°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 15 uL proteinaz K, 2 uL RNAz A (20 mg/uL) ve 200 uL AL tampon çözelti eklenmiş ve 15 saniye vorteks ile karıştırılmıştır. 70°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her bir tüpe 200 uL EtOH (%96-100) eklenerek vorteksle karıştırılmıştır. QIAamp santrifüj kolonu kullanılarak genomik DNA’nın yıkanma ve elüsyon işlemi yapılmıştır. DNA örnekleri çalışma süresince -20’de saklanmıştır.

5.3.3. DNA Konsantasyonunun Ölçümü

İzolasyon sonrası polimeraz zincir reaksiyonu için gDNA’nın konsantrasyonu Qubit dsDNA HS (high sensitivity) kiti ile ölçülmüştür. 1 uL Qubit dsDNA HS reaktifi, 199 uL tampon çözeltiyle karıştırılarak 1:200 oranında solüsyon hazırlanmıştır. Standartlar için 0,5 mL’lik qubit tüplerine 190 uL hazırlanan solüsyonlardan, 10 uL ise standartlardan (0 ng/uL ve 10 ng/uL) eklenmiştir ve DNA ölçümü için sınırlar oluşturuldu. Ardından 197 uL solüsyon ve 3 uL gDNA eklenerek örnekler oda sıcaklığında 3-4 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası karışımlar Qubit 2.0 cihazına yerleştirilerek DNA konsantrasyonu (ng/uL) kaydedildi.

5.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İzolasyonu yapılan DNA örneklerinden 16S rRNA geni hiper-değişken bölgelerinden V3-V4 bölgeleri, 341f (CCTACGGGNGGCWGCAG) ve 805r (GACTACHVGGGTATCTAATCC) primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. 12,5 µL 2x KAPA-HiFi HotStart ReadyMix, (10 µM) 0,5 µL 341f primer, (10 µM) 0,5 µL 805r primer, kalıp DNA (her bir örnek için 20 ng olacak şekilde hesaplandı), kalan miktar steril su ile 25 µL'ye tamamlandı ve tablo 5.4.3.1.'de gösterilen protokole göre işlem gerçekleştirildi. PCR sonrası örneklerin amplifikasyon ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemiyle ayrıştırıldıktan sonra UV ışık altında incelendi. Amplifikasyon ürünlerinden PCR primerlerinin temizlenmesi işlemi AMPure XP kiti kullanılarak, üreticinin belirttiği şekilde yapıldı.

95°C	3 dk	
95°C	30 sn	20 döngü
55°C	30 sn	
72°C	30 sn	
72°C	5 dk	

Tablo 5.3.4.1. PCR protokolü

5.3.5. Sekanslama İşlemi, Kümeleme ve Taksonomik Sınıflandırma

5.3.5.1. Kütüphane Miktarının Belirlenmesi ve Örnek Havuzunun Hazırlanması

AMPure XP ile primerleri temizlenen örneklerin tamamının DNA miktarı Qubit 2.0 flurometrik cihaz ile ölçüldü. Her bir örneğin (6 nM DNA içerecek şekilde)

dilüsyonları hazırlandı. Her bir dilüsyondan 5 µL alındı, boş bir tüpte birleştirilerek örnek havuzu hazırlanmış oldu. Hazırlanan havuzun DNA konsantrasyonu yine Qubit 2.0 ile ölçüldü. Aşağıdaki formül yardımıyla havuzun kaç nM DNA'ya karşılık geldiği hesaplandı.

$$\frac{\text{konsantrasyon ng/}\mu\text{L}}{660 \text{ g/mol} \times \text{kütüphane baz uzunluğu}} \times 10^6 = \text{nM düzeyinde konsantrasyon}$$

$$\frac{3,2 \text{ ng/}\mu\text{L}}{660 \text{ g/mol} \times 630} \times 10^6 = 7,6 \text{ nM}$$

5.3.5.2. Kütüphanenin Denatürasyonu ve MiSeq Cihazına Yüklenmesi

İlk aşamada 7,6 nM olan kütüphane 4 nM'a dilüe edildi. Sonrasında 0,2 N NaOH kullanılarak DNA kütüphanesi denatüre edildi. 4 nM kütüphaneden ve 0,2 N NaOH'ten 5'er µL alınarak mikrosantrifüj tüpünde birleştirildi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek DNA'nın denatürasyonu sağlandı. 990 µL hibridizasyon çözeltisi denatüre edilmiş DNA'nın üzerine eklendi. DNA kütüphanesi 12 pM'a dilüe edildi, PhiX kütüphanesi ise 12,5 pM'a dilüe edildi. MiSeq kartuşuna yüklenecek DNA kütüphanesine %20 oranda PhiX eklendi.

5.3.5.3. Kümeleme ve Taksonomik Sınıflandırma

Dizinleme işlemi sonucunda elde edilen verilerin analizi için QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) ve mothur açık kaynaklı biyoinformatik programları kullanıldı. Ham okumaların analiz işleminden önce cutadapt programı ile dizinlerdeki primer bölgeleri kesilmiştir (122). Ardından Nephel boru hattına aktarılan verilerden ortalama kalite skorunun altında kalanlar ve uzunlukları 450 bp üzerinde olan okumalar dışlanmıştır. Çift-sonlu okumaların birleşmesi ile operasyonel taksonomik üniteler (OTU) oluşturulmuştur.

Boru hattından OTU tablosu elde edildikten sonra, mothur (v.1.39.5) programına entegre UCHIME (v.4.2) programı kimerik okumaların kaldırılması için

çalıştırılmıştır (123). Cins seviyesinde sınıflandırılmayan okumalar bir üst sınıflandırma hiyerarşisine dahil edilmiştir.

Alfa çeşitlilik analizi için Shannon, Chao1, Gözlemsel OTU (Observed OTU) ve Fisher indisleri kullanılmıştır. Bu 4 analizde, gruplara ait OTU sayılarının değişimleri karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analiz Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılmıştır.

5.3.6. Topluluk yapılarının ve çeşitliliğinin çok değişkenli analizi

Beta çeşitlilik, örnek gruplarının içeriklerinin birbirlerine olan uzaklıklarının karşılaştırılmasıdır. Beta çeşitlilik analizi için Bray-Curtis benzerlik indisi, JACCARD, Temel Koordinatların Kanonik Analizi (Canonical Analysis of Principal Coordinates, CAP) ve UNIFRAC indisleri kullanılmıştır.

DESeq2 analizi ile gruptaki bakteri taksonomileri tanımlanmıştır. MicrobiomeAnalyst programı kullanılarak DESeq2 analizi sonuçları ısı haritaları, filum korelasyon, LEfSe, Random Forest sınıflandırmaları elde edilmiştir.

Mikrobiyota analizi ile biyokimyasal ve antropometrik verilerin karşılaştırılması Adonis (Analysis of Variance Based on Distance Matrices) ve İlgili Kanonik Analiz (Corresponding Canonical Analysis, CCA) ile yapılmıştır. Spearman korelasyon analizi sonucunda ısı haritası elde edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Katılımcıların Demografik ve Klinik Verisi

Çalışmaya katılan hastaların demografik bilgileri ve zamanla elde edilen antropometrik ölçüm sonuçları Tablo 6.1'deki gibidir. Çalışmaya dahil edilen 10 erkek ve 7 kadının yaş ortalaması $50,24 \pm 5,57$ 'dir. Ramazan sonunda, öncesine göre kilo, bel çevresi, BKİ, kalça çevresi ve vücut kas oranında azalma görülmektedir (Tablo 6.1.1.).

Tablo 6.1.1 Demografik ve Antropometrik Veriler

Değişken	Ramazan Öncesi Mayıs 2016	Ramazan Sonu Haziran 2016	Ramazan Sonrası Kasım 2016	P değeri*
Cinsiyet	10 Erkek/7 Kadın			
Yaş	50,24±5,57			
Boy (cm)	164±8,3			
Kilo (kg)	82,71±18,26	82,24±17,57	83,71±17,94	0,06
BKİ	31,00±5,68	30,63±5,25	31,22±5,7	0,55
Bel çevresi	99,4±12,55	99,06±11,01	106,75±13,51	0,00**
Kalça çevresi	109,5 ±11,83	107,75±12,41	111,31±11,95	0,42
Bel kalça oranı	0,90 ±0,07	0,92±0,7	0,95±0,6	0,20
Vücut yağ oranı	33,07±9,35	33,26±10,28	34,33±9,18	0,62
Vücut yağ kütlesi	27,25±11,93	27,59±12,08	28,8±12,04	0,22
Kas kütlesi	52,19±11,86	51,47±11,3	51,96±11,31	0,91

*P<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

**Freidman testi uygulanmıştır.

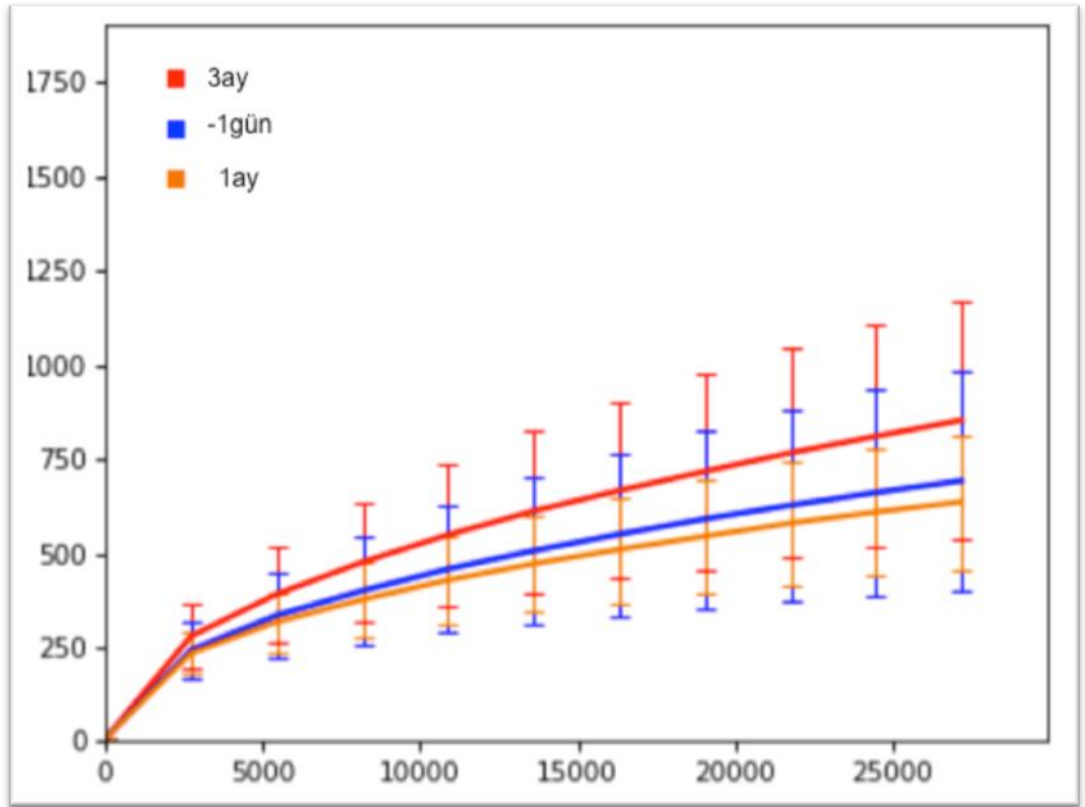
Tablo 6.1.2 Biyokimyasal Veriler

Değişken	Ramazan Öncesi Mayıs 2016	Ramazan Sonu Haziran 2016	Ramazan Sonrası Kasım 2016	P değeri*
HbA1c	5,54±,31	5,62±0,25	5,61±0,28	0,09
Açlık kan şekeri (AKŞ)	86,41±9,35	93,35±6,37	99,41±7,56	0,00**
İnsülin (açlık)	11,58±3,58	12,4±5,26	14,42±5,38	0,47
HOMA-IR	2,46±0,76	2,86±1,26	3,56±1,48	0,005**
C-peptid	2,11±0,38	2,2±0,6	3,14±0,95	0,00**
Ürik asit	6,03±1,18	5,34±0,98	5,58±1,2	0,12
ALT	39,37 ±13,88	32,37±14,46	39,62±18,9	0,14
Kreatin	0,82 ±0,19	0,81±0,19	0,83±0,18	0,43
HDL	40,23 ±11,26	42±10,31	41,17±11,62	0,25
LDL	100,23 ±31,74	98,94±43,92	115,4±30	0,015**
Trigliserid	174,25 ±84,67	154,37±88,1	169±80,19	0,64
Total kolesterol	175,05 ±25,98	180±37,13	191,17±31,26	0,016**

Ramazan sonrasında ait kan örneklerinin ramazan öncesine göre karşılaştırması yapıldığında AKŞ, açlık insülin, HbA1c, HOMA-IR, C-peptid, HDL ve total kolesterol seviyelerinin yükselirken; ürik asit, ALT, kreatinin, LDL ve trigliserit düzeylerinin azaldığı görülmektedir (Tablo 6.1.2.).

6.2. Biyoinformatik Analiz

16s rRNA geninin V3-V4 bölgelerinden elde edilen okuma sayısı 10775 ile 148941 arasında değişmektedir. Okuma sayılarına ait tablo Ek-1'deki verilmiştir. Kütüphane okumalarının her örnekteki bakteri türlerini örnekleme başarısına ait eğri Şekil 6.2.1'de gösterildiği gibidir.

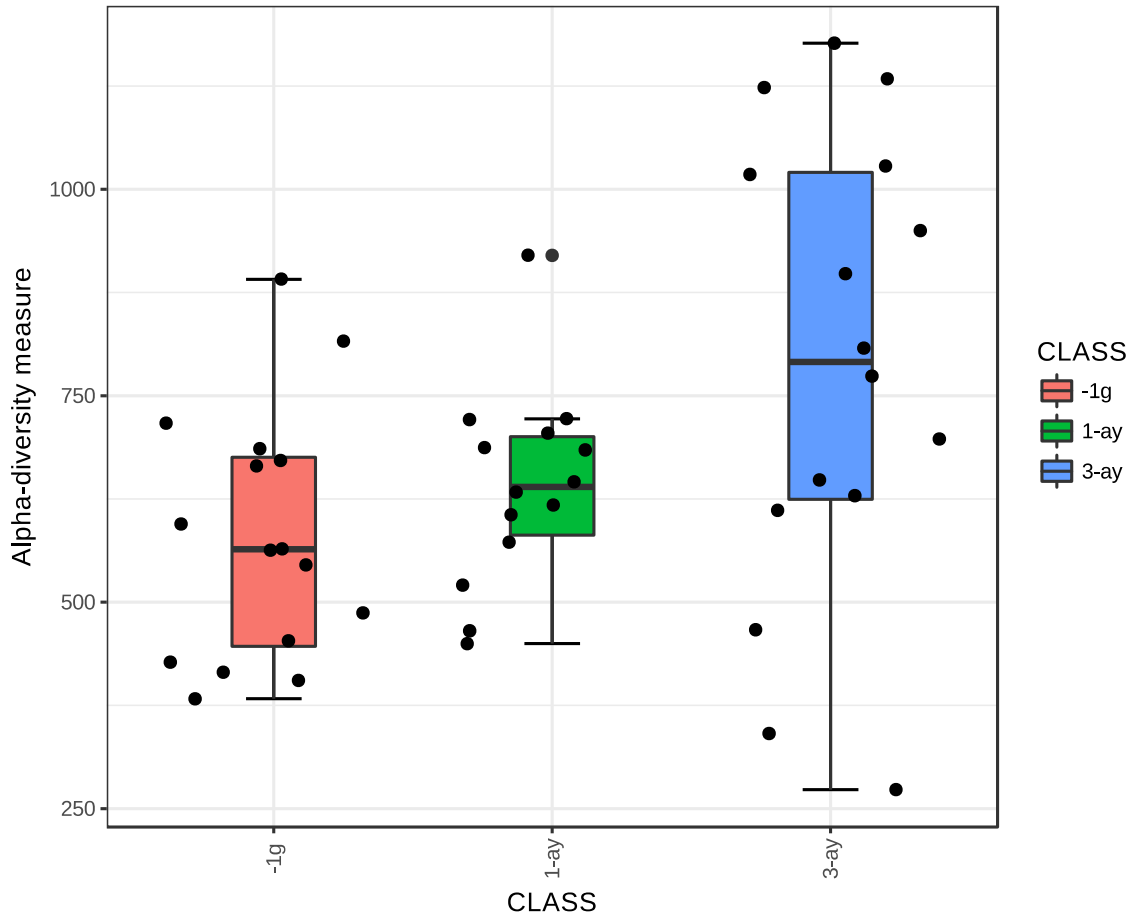


Şekil 6.2.1.1. Rarefaction eğrileri.

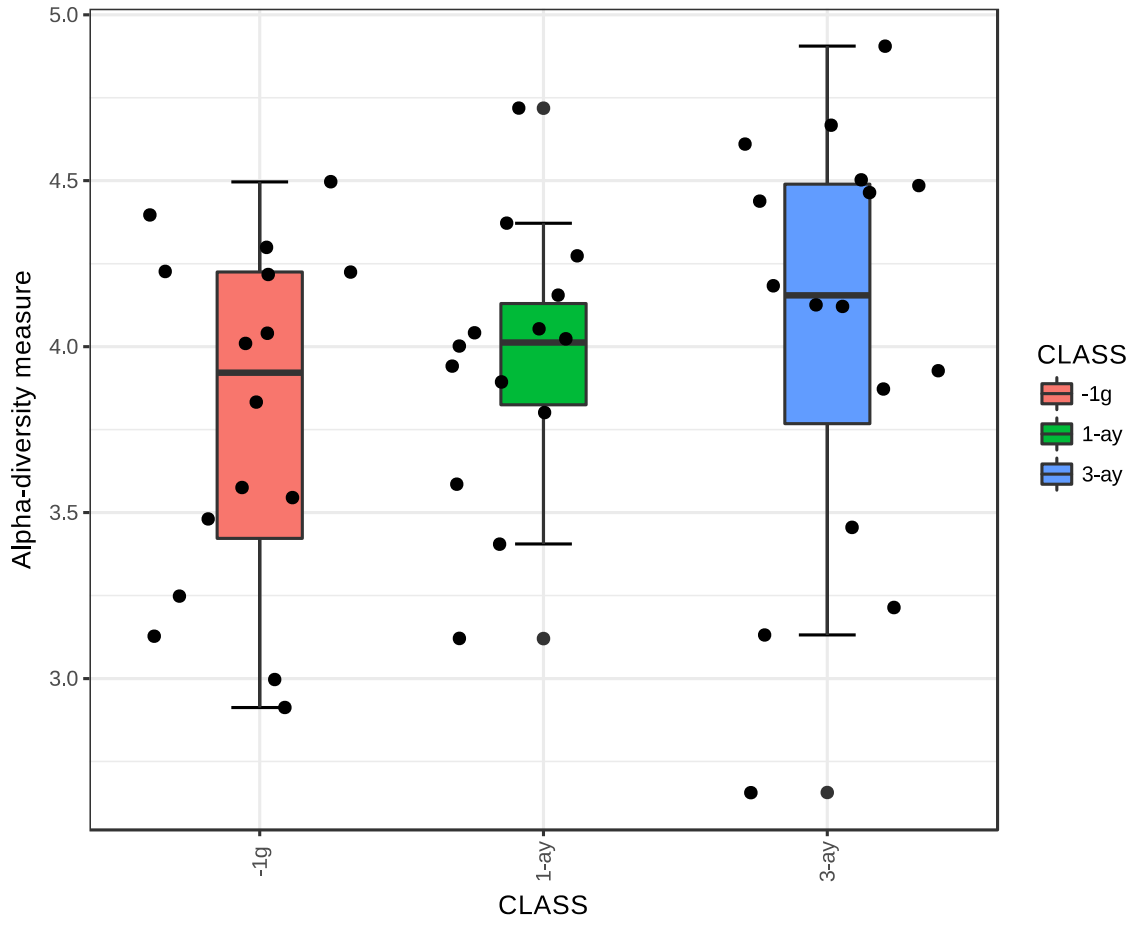
6.2.1. Alfa çeşitlilik

Ramazan'dan önce, ramazandan sonra ve ramazan bitiminden 5 ay sonra alınan gaita

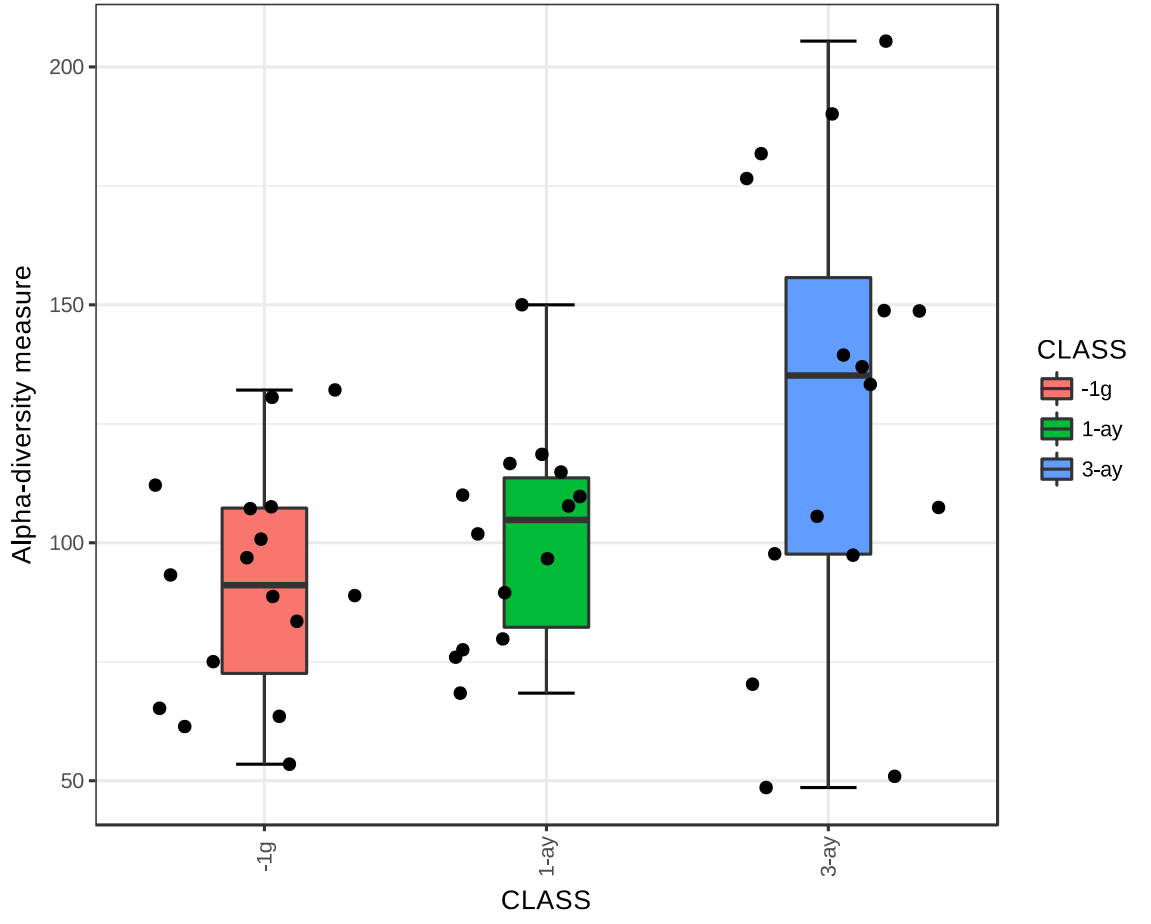
örneklerine ait alfa çeşitlilik analizleri yapılmıştır. Bu analiz üç farklı zaman noktasına ait OTU (operational taxonomic unit)'ların sayısal olarak karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Üç indisin sonucuna göre; ramazan öncesine göre ramazan bitiminde ve 5 ay sonrasında alfa çeşitliliğin anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.2.2.) (Kruskal Wallis, $p=0,035$). Shannon indeksiyle yapılan analiz sonucu Şekil 6.2.3.'de gösterildiği şekildedir ve anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Kruskal Wallis, $p=0,32$). Fisher indeksi ve Chao1 indeksi kullanılarak yapılan analizler Şekil 6.2.4. ve Şekil 6.2.5.'te verilmiştir. Bu iki analiz sonucunda anlamlı bir değişim gözlemlenmiştir (Kruskal Wallis, sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,01$).



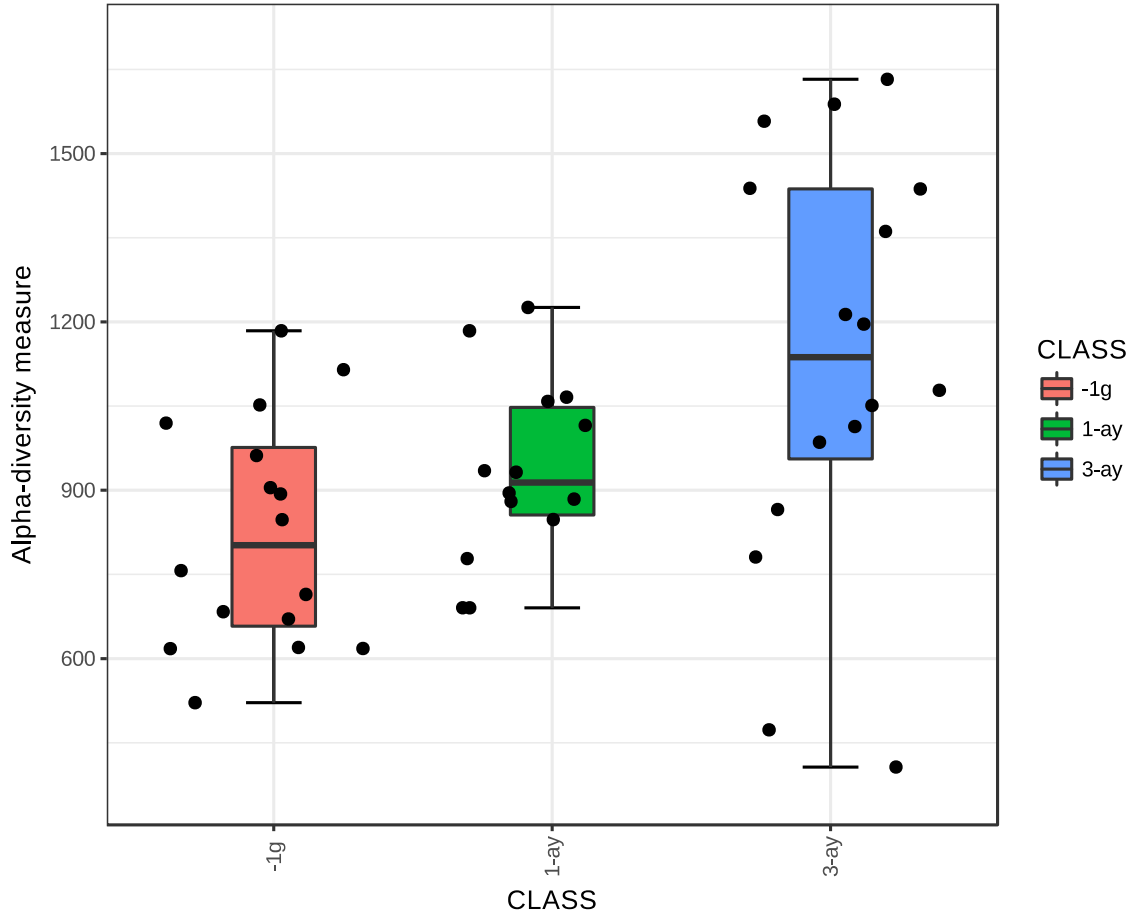
Şekil 6.2.1.2. Alfa çeşitlilik analizi 3 gruba ait tür sayılarının karşılaştırılması.



Şekil 6.2.1.3. Shannon indeksi ile elde edilen alfa çeşitlilik analizi.



Şekil 6.2.1.4. Fisher indeksi kullanılarak elde edilen alfa çeşitlilik analizi.



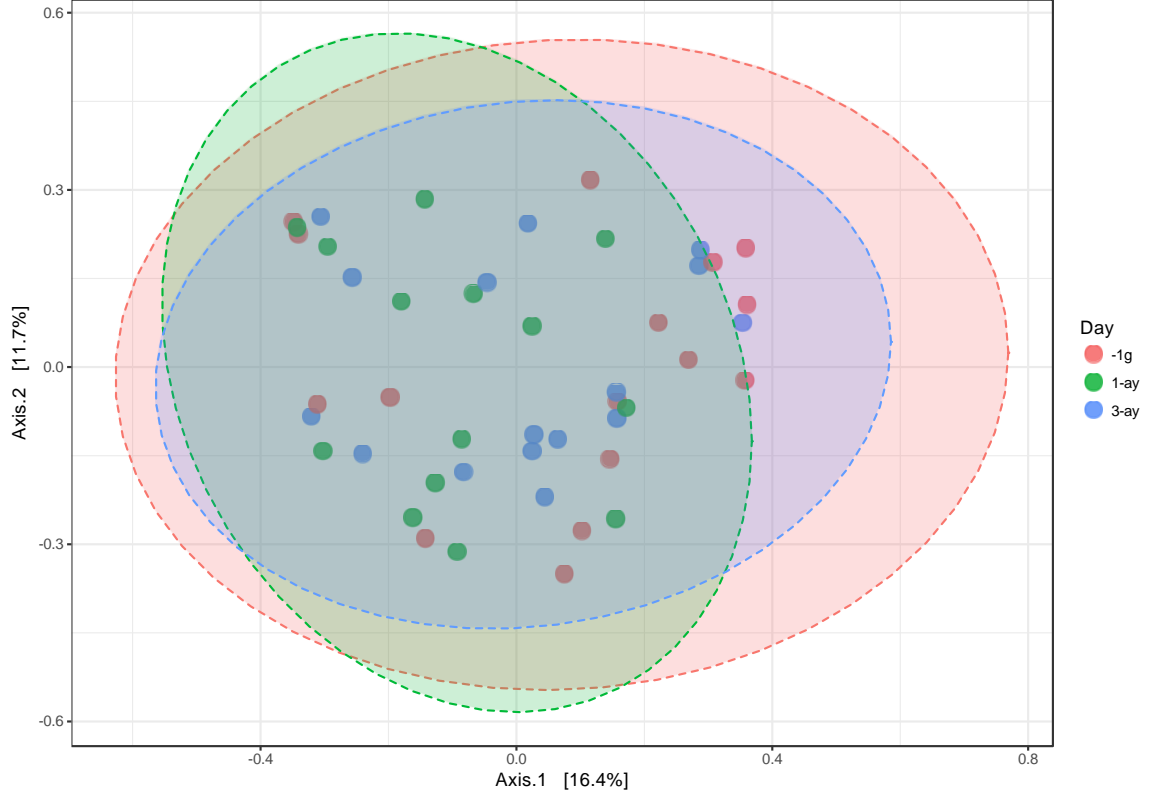
Şekil 6.2.1.5. Chao1 indeksi ile hesaplanan alfa çeşitlilik analizi.

6.2.2. Beta çeşitlilik

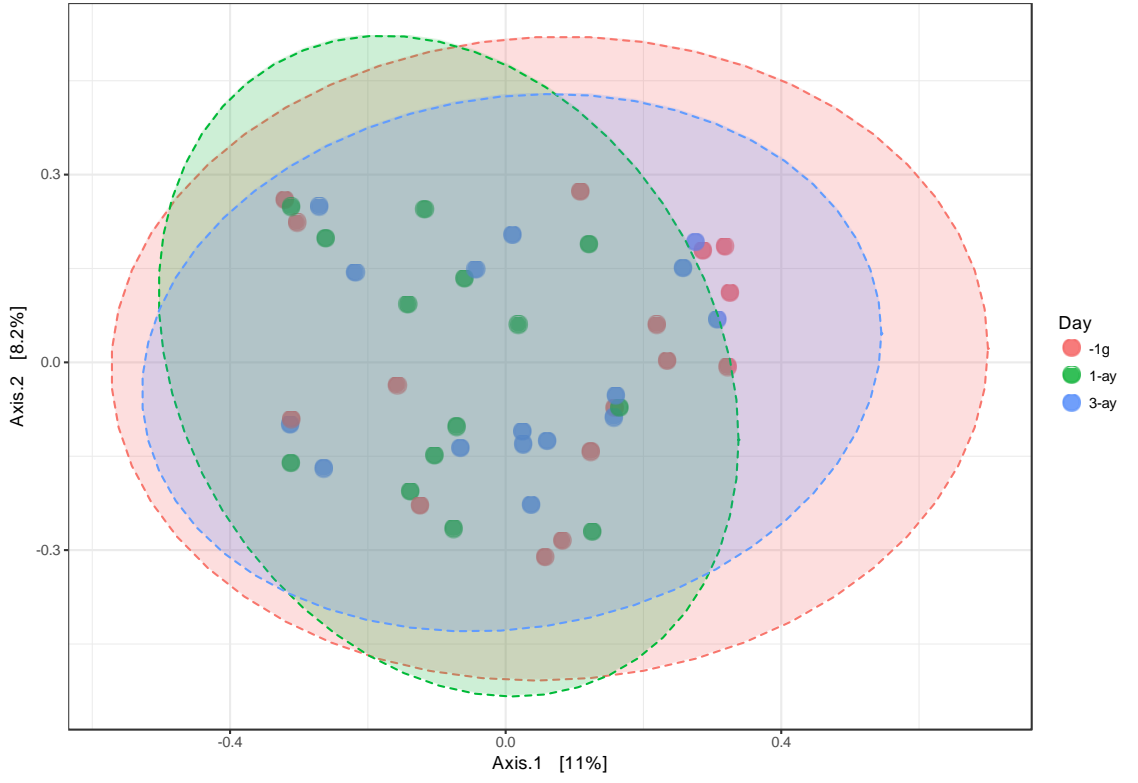
Gruplardan toplanan örneklere ait bakteri topluluklarının benzerlikleri Bray-Curtis, JACCARD ve UNIFRAC analizleri kullanılarak yapılmıştır. Örnekler arasındaki ayrışmalar temel koordinatlar analizi (PCoA) ordinasyonu kullanılarak iki boyutlu grafiklerle sırasıyla Şekil 6.2.2.1., Şekil 6.2.2.2. ve Şekil 6.2.2.3.'te gösterilmiştir.

Gruplardan elde edilen örneklerin kendi içinde ve diğer gruplarla kıyaslanmasında PERMANOVA testi kullanılmıştır. Buna göre Bray-Curtis ($R^2 = 0.037$, $p < 0.736$) ve JACCARD ($R^2 = 0.037$, $p < 0.895$) indisleriyle grupları oluşturulan örneklerin grup içi mesafe farklılıklarının, gruplar arası mesafe farklılıklarından PERMANOVA testine

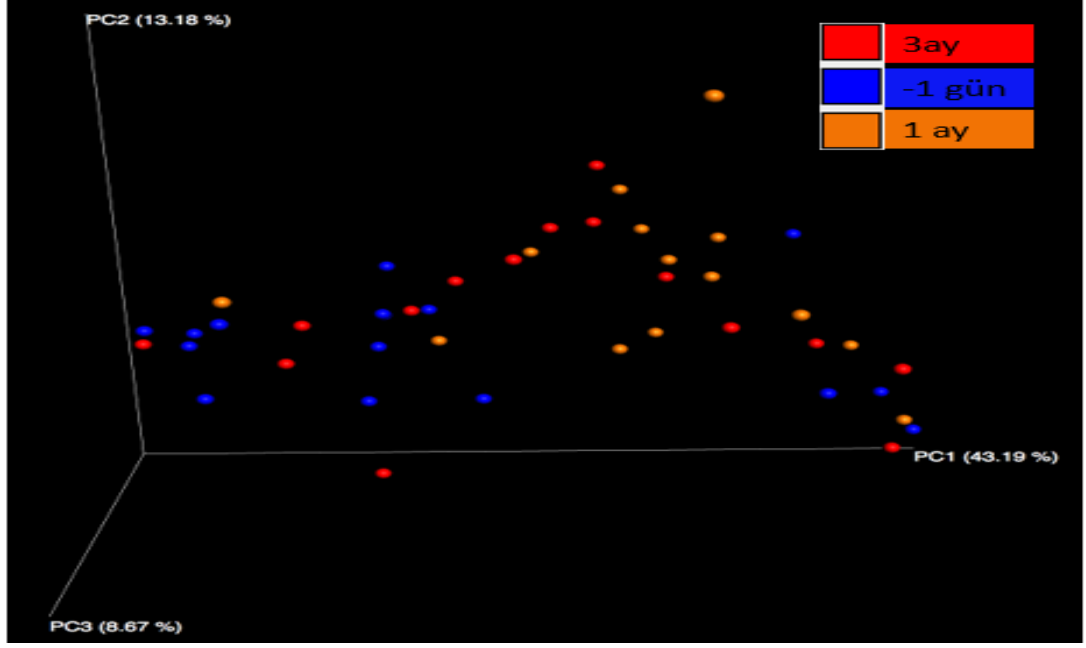
göre anlamlı bir şekilde farklı olmadığı görüldü.



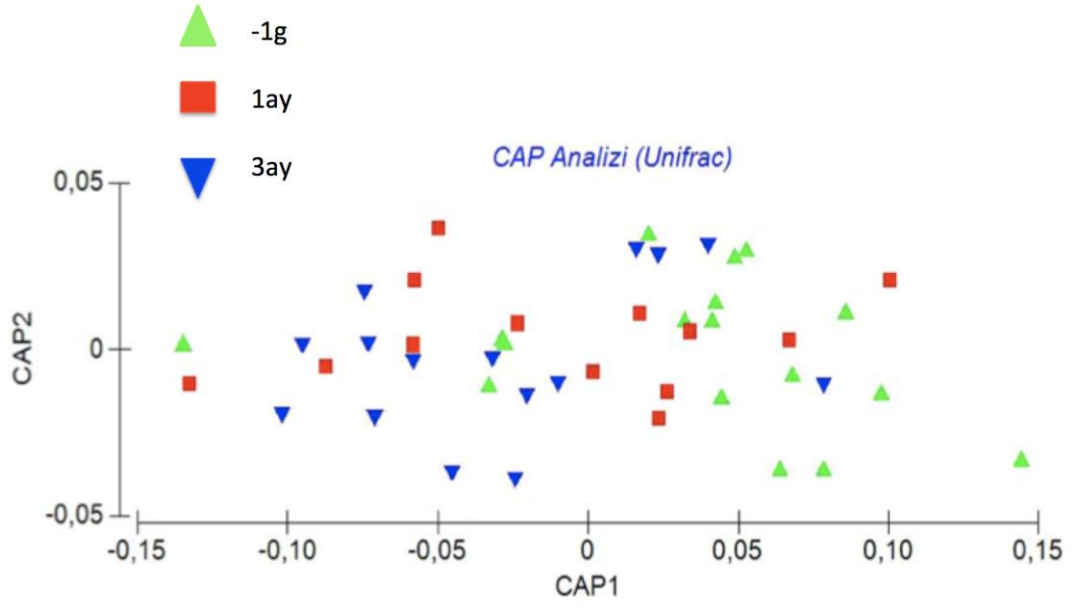
Şekil 6.2.2.1. Gruplardan elde edilen mikrobiyota analiz sonucunun Bray-Curtis indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA). Elipsler merkez noktaların etrafındaki %95 güven aralıklarını göstermektedir.



Şekil 6.2.2.2. Graplardan elde edilen mikrobiyota analiz sonucunun JACCARD indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA). Elipsler merkez noktaların etrafındaki %95 güven aralıklarını göstermektedir.



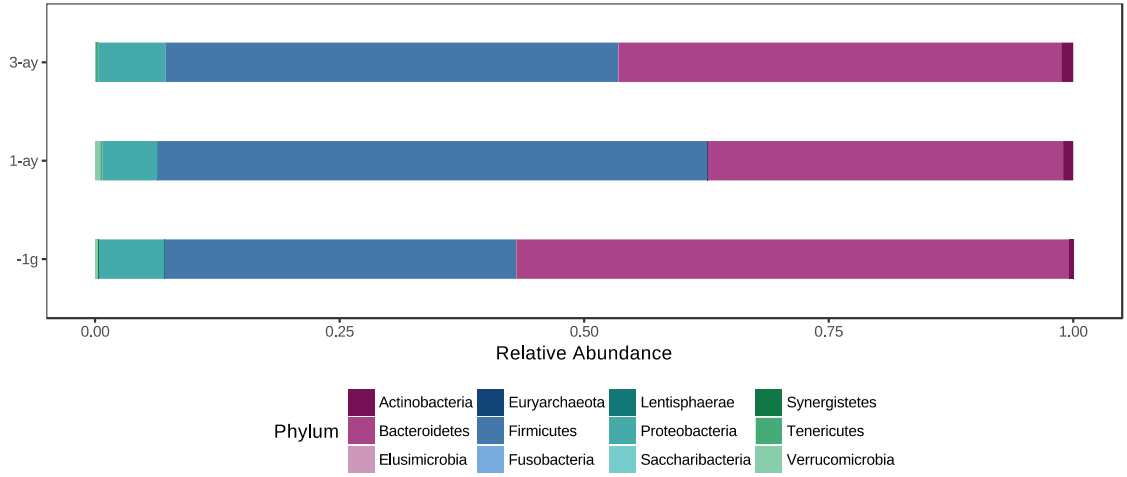
Şekil 6.2.2.3. Grupların elde edilen örneklerdeki mikrobiyotanın UNIFRAC indisine göre benzerliklerinin temel koordinat analizi (PCoA).



Şekil 6.2.2.4. Temel koordinatların kanonik analizi (Canonical Analysis of Principal Coordinates, CAP) ile beta çeşitliliği UNIFRAC indisine göre gösterilmiştir.

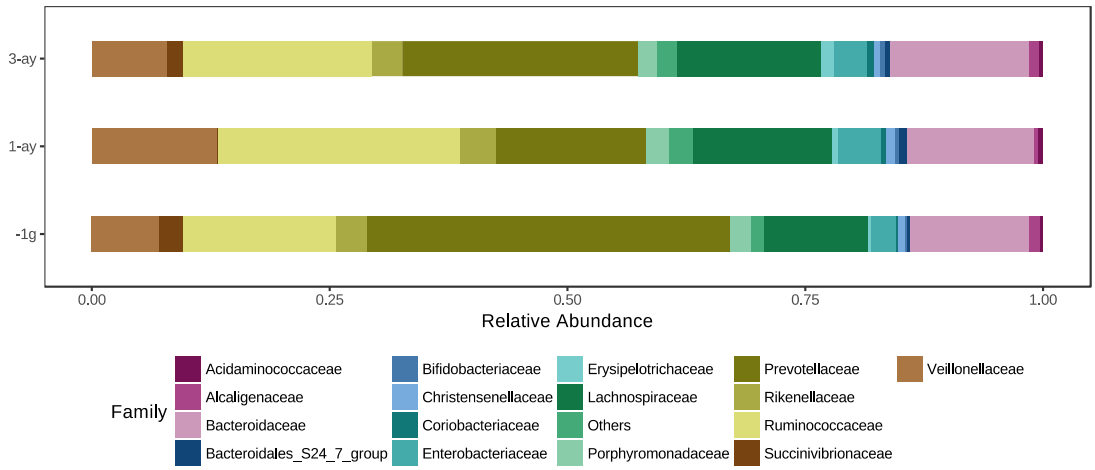
6.2.3. Taksonomik çeşitlilik

Hastaların, 3 farklı zaman noktasında alınan örneklerindeki filum, aile ve cins düzeylerindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif değişimleri sırasıyla Şekil 6.2.3.1., Şekil 6.2.3.2., Şekil 6.2.3.3.'te gösterilmiştir.

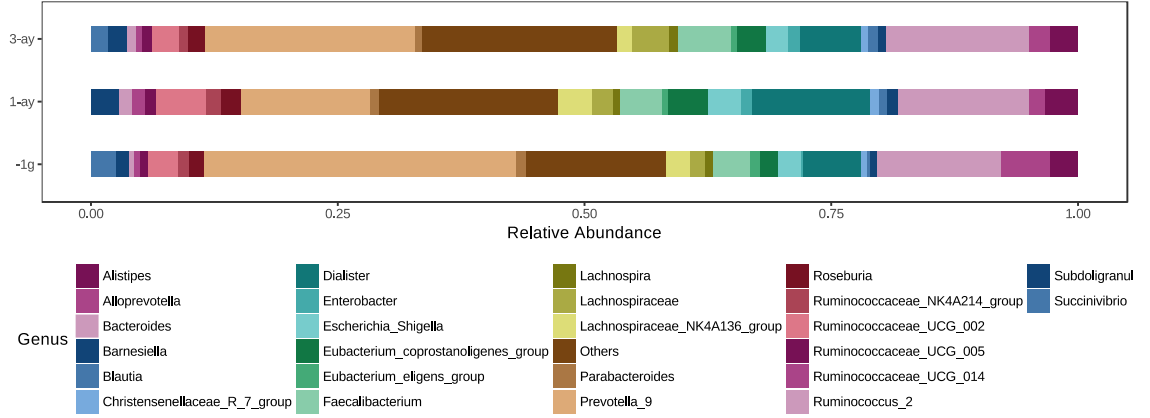


Şekil 6.2.3.1. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının filum seviyesinde değişimi.

Ramazan öncesinde (-1g) sırasıyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria* filumları tespit edilmiştir. Ramazan bitiminde (1-ay), ramazan öncesine göre *Firmicutes* filumunda artış ve *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* filumlarında azalma görülmüştür.

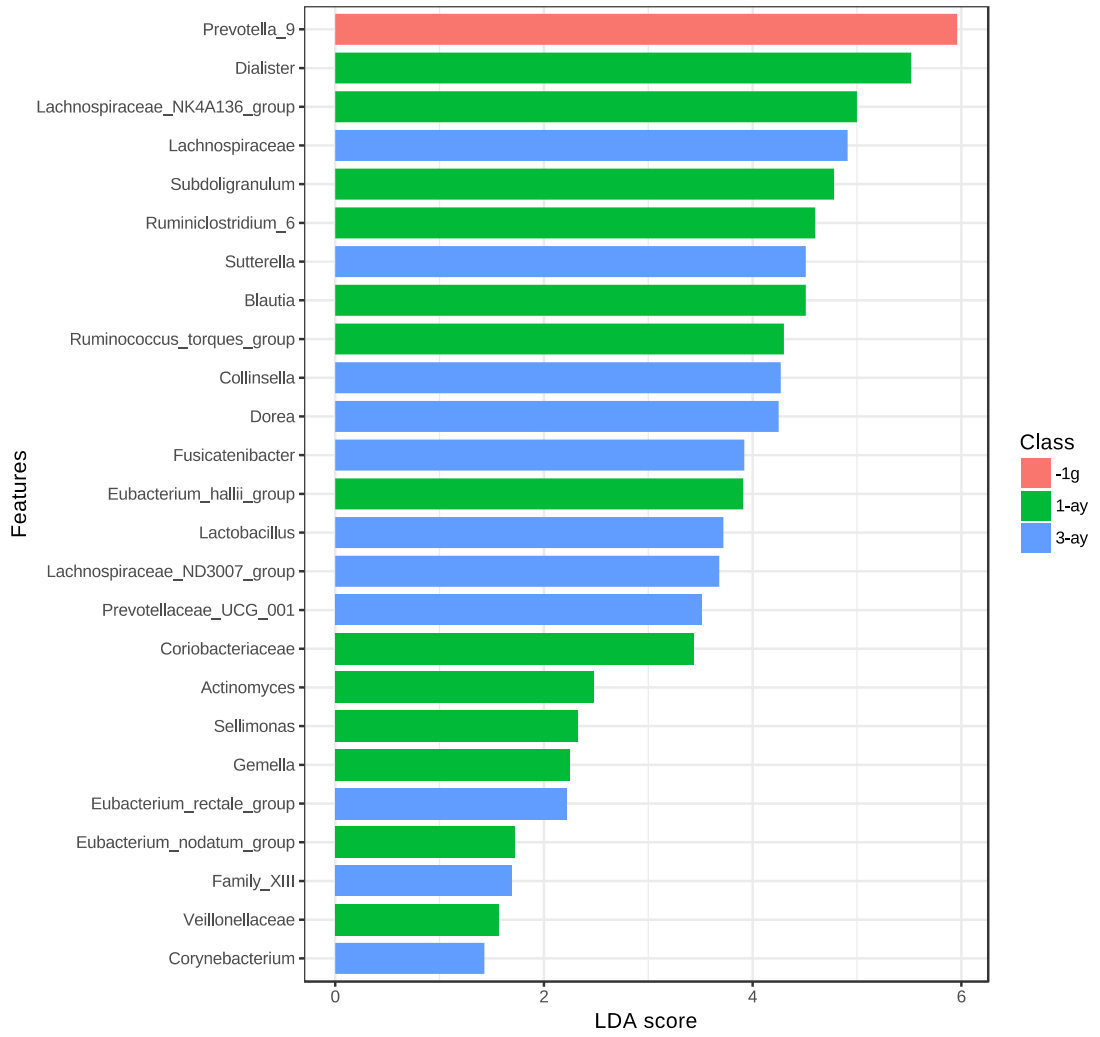


Şekil 6.2.3.2. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının aile seviyesinde değişimi.



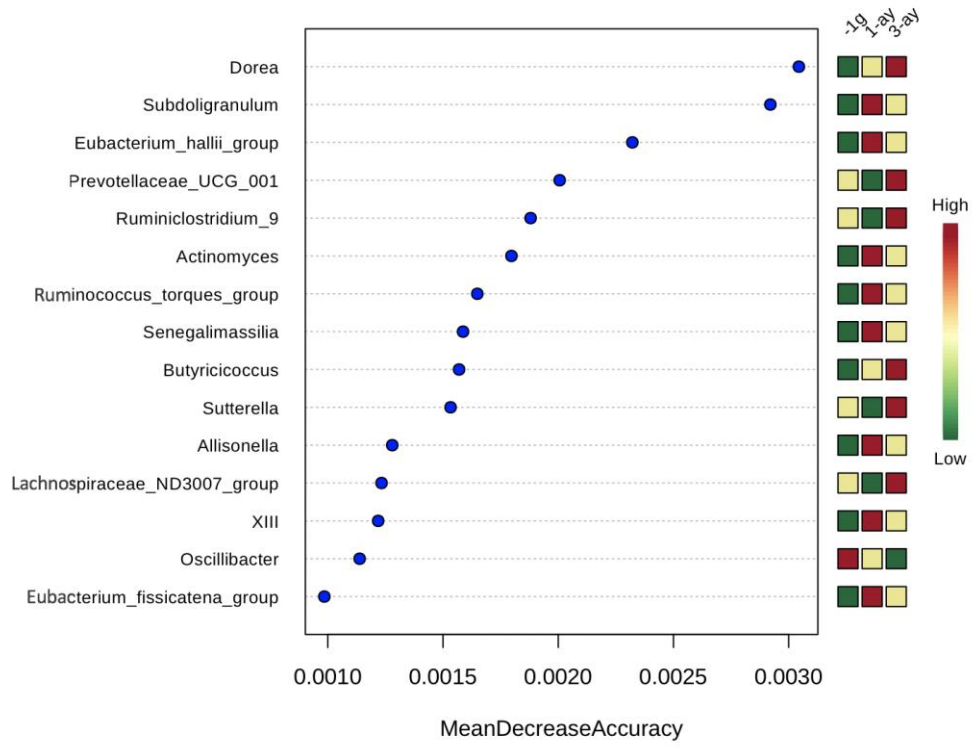
Şekil 6.2.3.3. Hastaların bağırsak mikrobiyotasının cins seviyesinde değişimi.

LEfSe analizi sonuçlarına göre gruptaki farklılığa neden olan en baskın bakteri türleri Şekil 6.2.3.4.'te gösterilmiştir. Ramazan öncesinde en baskın tür *Prevotella* iken, ramazan bitiminde *Dialister* ve *Lachnospiraceae* türleri tespit edilmiştir.



Şekil 6.2.3.4. LEfSe (Linear discriminant analysis Effect Size) analizi.

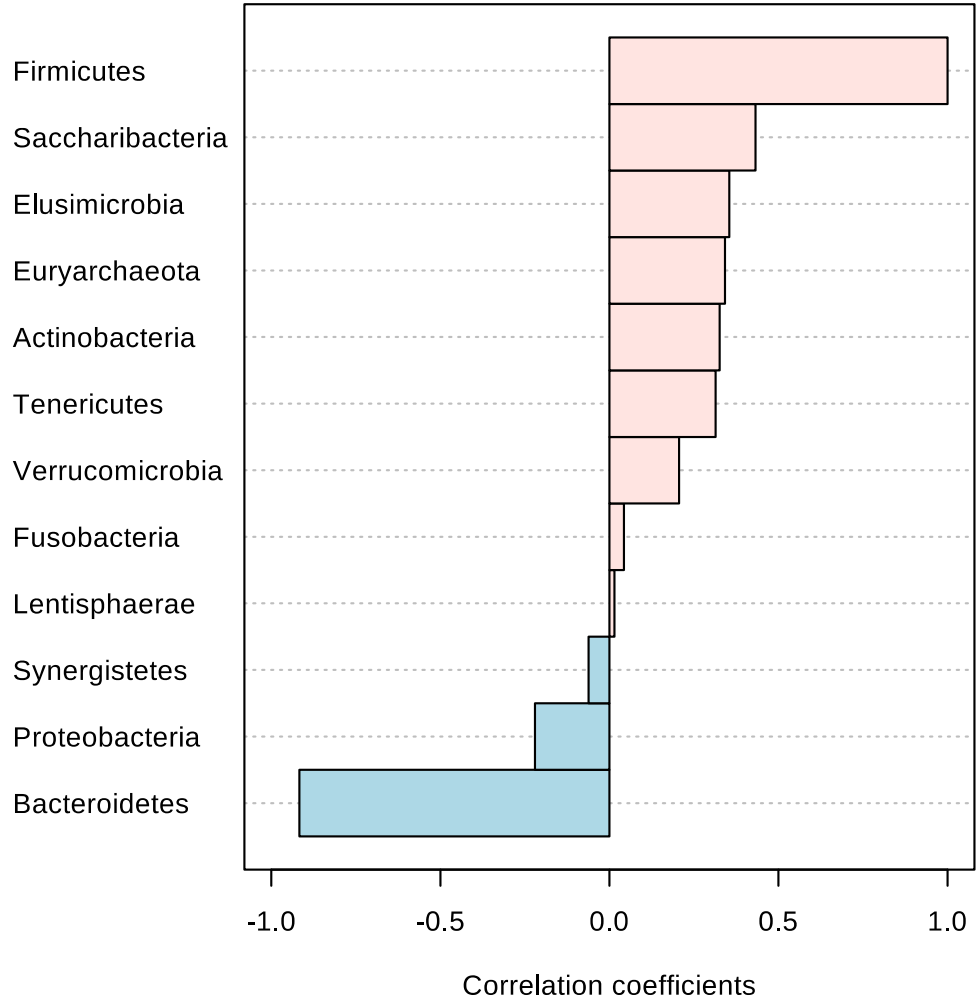
Random Forest tekniğiyle sınıflandırma yapılmış olup analiz sonucu Şekil 6.2.3.5.'te gösterilmiştir. Ramazan sonrasında hastaların bağırsak mikrobiyotasında *Subdoligranulum* ve *Eubacterium* grubu bakteri türleri, ramazan öncesi dönemde ise *Dorea* cinsi bakteri türü en baskın tür olarak bulunmuştur.



Şekil 6.2.3.5. Random Forest regresyon analizi.

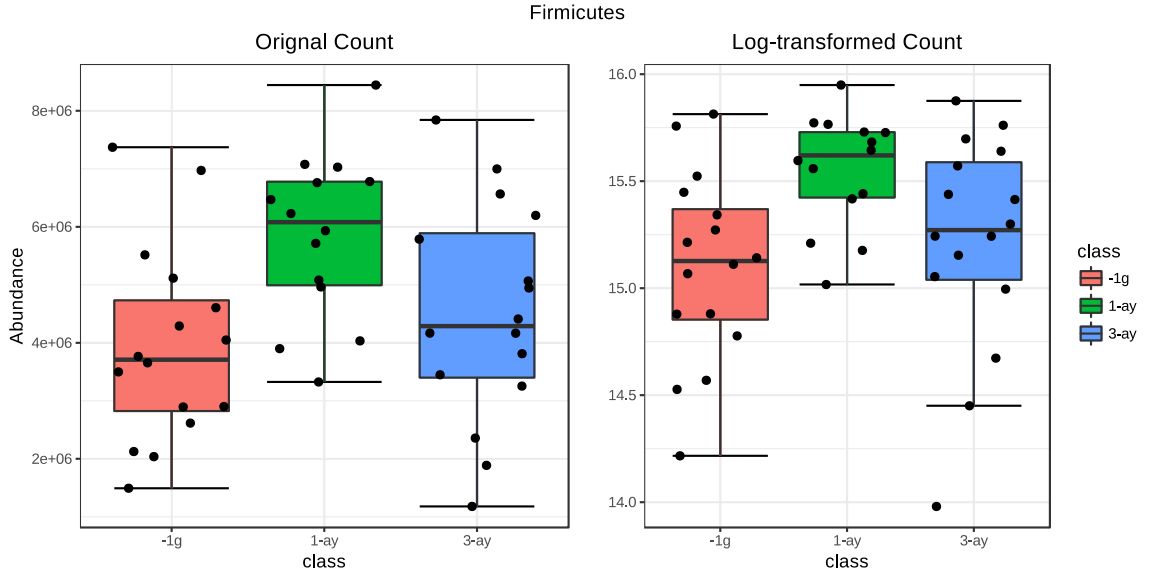
Pearson's korelasyon analizine göre *Firmicutes* filumu ile *Bacteroidetes* filumları anlamlı bir şekilde ($r=-0,5$) ters korelasyon göstermektedir (Şekil 6.2.3.5.).

Top 12 phylum correlated with the Firmicutes

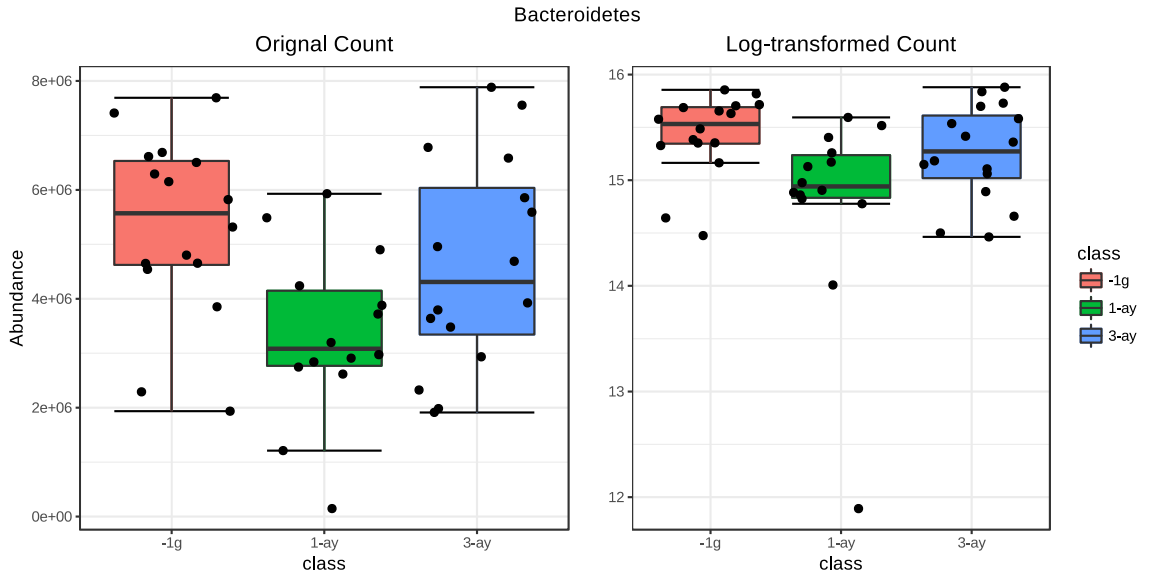


Şekil 6.2.3.6. Firmicutes filumu Pearson's korelasyon analizi ile Bacteroidetes filumuyla korelasyon analizi.

Ramazan sonunda *Firmicutes* filumunun anlamlı derecede arttığı (Şekil 6.2.3.6., $p=0,01$) ve *Bacteroidetes* filumunun ise önemli oranda azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.2.3.7., $p=0,01$).



Şekil 6.2.3.7. Gruplar arası Firmicutes filumu karşılaştırması.



Şekil 6.2.3.8. Gruplar arası Bacteroidetes filumu karşılaştırması.

6.2.4. Metadata ve Mikrobiyota Korelasyon Analizi

Klinik veriler ve mikrobiyota değişimi arasındaki korelasyon Adonis ve İlgili Kanonik Analiz (Corresponding Canonical Analysis, CCA) testleriyle gösterilmiştir. Bu iki testin uygulama şekilleri farklı olsa da her ikisi de mikrobiyotayı etkileyen etmenleri göstermektedir. R programında *vegan* paketi kullanılarak Adonis analizi yapılmıştır. Adonis, Bray-Curtis analiz sonucu ile klinik bulguların ilişkisini göstermektedir. CCA metodu da R programında *vegan* paketi kullanılarak yapılmıştır. CCA, OTU baskınlığı ve çeşitliliğiyle demografik ve biyokimyasal verilerin korelasyonunu göstermektedir.

Adonis OTU Bray-Curtis Modeli P-değeri: 5e-04

	R2	P
Cinsiyet	0.0557	0.000333
Yaş	0.0673	0.000333
HbA1c	0.0327	0.014
BKİ	0.0597	0.000333
İnsülin	0.0233	0.125
HOMA-IR	0.0236	0.137
C-peptid	0.0338	0.00933
Ürik asit	0.0247	0.093
HDL	0.03	0.0247
LDL	0.0241	0.108
TG	0.0371	0.00233
Total kolesterol	0.0261	0.054

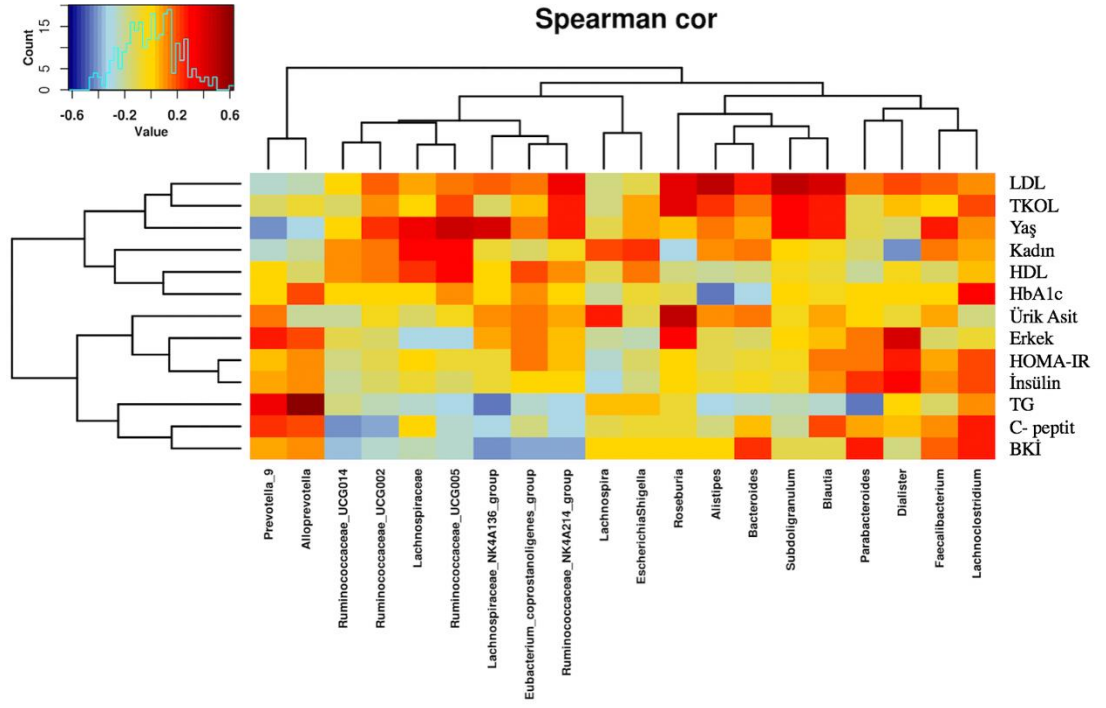
şekil 6.2.3.9. Adonis Analizi

CCA Significance

	ChiSquare	F	P	Signif
Cinsiyet	0.12	2.75	0.001	***
Yaş	0.13	2.97	0.001	***
HbA1c	0.08	1.75	0.005	**
BKİ	0.13	2.92	0.001	***
İnsülin	0.06	1.39	0.056	
HOMA-IR	0.06	1.29	0.111	
C-peptid	0.07	1.50	0.028	*
Ürik asit	0.06	1.26	0.127	
HDL	0.08	1.91	0.005	**
LDL	0.06	1.36	0.073	
TG	0.09	2.12	0.001	***
Total kolesterol	0.05	1.18	0.208	

Şekil 6.2.3.10. İlgili Kanonik Analiz (CCA).

Adonis ve CCA metotlarının sonuçları sırasıyla Şekil 6.2.3.9. ve Şekil 6.2.3.10.'da gösterilmiştir. Bu iki analiz sonucunda da elde edilen veriler birbirini destekler niteliktedir. Her iki analizin sonucuna göre mikrobiyotayı en çok etkileyen etmenlerin başında demografik ve antropometrik verilerden cinsiyet, yaş, BKİ ve biyokimyasal verilerden TG, HbA1c, C-peptid, HDL gelmektedir.



Şekil 6.2.3.11. Spearman korelasyon analizi

Spearman korelasyon analizi ile bakterilerin baskınlığının demografik veriler ve biyokimyasal verilerle ilişkisi incelenmiştir (Şekil 6.2.3.11.). Buna göre *Bacteroides* cinsindeki artış ile HDL düzeyi arasında pozitif korelasyon, trigliserit düzeyi ile negatif korelasyon bulunmuştur. *Eubacterium* cinsi ile BKİ ve trigliserit arasında negatif korelasyon, HDL ile pozitif korelasyon gözlemlenmiştir. *Prevotella* ile trigliserit, C-peptit, ürik asit pozitif korelasyon gösterirken, LDL negatif korelasyon göstermiştir.

7. TARTIŞMA

Bağırsak mikrobiyotasıyla ilgili yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar açlığın mikrobiyota ve diyabet üzerinde etkileri olduğunu göstermektedir. Ayrıca mikrobiyota değişimi-insülin direnci arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar da gün geçtikçe artmaktadır.

Bu çalışmada, prediyabet hastalarından ramazan öncesi, ramazan sonrası ve ramazan bitiminden üç ay sonra alınan antropometrik ölçümler, biyokimyasal bulgular ve gaita örneklerindeki bağırsak mikrobiyotası değişimleri incelenmiştir.

Elde edilen antropometrik bulgularda hastaların bel çevresinde Ramazan sonrasında, öncesine göre anlamlı oranda azalma görülmüştür. Çalışmamızda kilo, kalça çevresi ve vücut kas kütlelerinde de azalma görülmüştür ancak anlamlı değildir. İran'da metabolik sendromlu bireylerle yapılan bir çalışmada yaş ortalaması 54 ± 10 olan 82 kişi incelenmiştir. Bireylerin BKİ düzeylerinde, bel ve kalça çevrelerinde anlamlı düzeyde azalma görülmüştür (124).

Ramazan sonrasında, öncesine göre HbA1c, açlık kan şekeri, açlık insülin düzeyi, HOMA-IR, C-peptid, HDL düzeylerinde artış görülmüştür. Trigliserid, LDL, kreatinin, ürik asit düzeylerinde ise azalma görüldü. Literatüre baktığımızda orucun açlık kan şekeri, HbA1c ve HOMA-IR düzeylerini anlamlı düzeyde düşürdüğünü görmekteyiz (124). Çalışmamızda literatürdeki sonuçların tam tersini görmekteyiz. Bu durum çalışma grubunda 17 kişi olmasından kaynaklanmış olabilir. Literatüre baktığımızda araştırmaların 1301 kişi, 147 kişi gibi daha fazla sayıda katılımcıyla yapıldığını görmekteyiz (125,126).

Mikrobiyotadaki alfa çeşitliliğe bakıldığında üç grup arasında tür sayılarının anlamlı bir şekilde değiştiği görülmektedir ($p<0,05$).

Bray-Curtis ve JACCARD analizleri sonucunda bakılan beta çeşitlilikte üç zaman noktası arasında anlamlı bir ayrışma görülmemiştir ($p=0,73$, $p=0,89$).

Bağırsak mikrobiyotasında en baskın iki filum Bacteroidetes ve Firmicutes

filumlarıdır. Yapılan çalışmalarda obezite varlığında Firmicutes filumunun arttığı ve Bacteroidetes'in azaldığı gösterilmiştir. Hatta Bacteroidetes/Firmicutes (B/F) oranı obezite için bir gösterge olarak kabul edilmektedir (127). Bu çalışmada Ramazan öncesinde (-1g) hastaların bağırsak mikrobiyotasında sırasıyla Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria ve diğer filumların baskın olduğu görülmüştür. Ramazan sonrasında (1ay) Firmicutes filumunda artış görülürken, Bacteroidetes ve Proteobacteria filumlarında azalma görülmüştür. Proteobacteria'nın mikrobiyotada artmasıyla konakçının bağırsağında disbiyozis görüldüğü ve bunun da hastalıkların oluşmasında potansiyel bir marker olabileceğiyle ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur (128). Tip 2 diyabetle yapılan çalışmalarda da kontrol grubu ve diyabet hastaları karşılaştırıldığında diyabetik bireylerde Proteobacteria'nın ve Bacteroidetes'in fazla olduğu bulunmuştur (98).

Cins düzeyinde mikrobiyota değişimine bakıldığında ramazan bitiminde, öncesine göre; *Subdoligranulum*, *Dorea* ve *Eubacterium hallii* gruplarında artış görülmüştür. *Eubacterium*, Firmicutes filumuna ait bir bakteri cinsidir (129). *Eubacterium hallii* glukoz, asetat ve laktatı sübstrat olarak kullanıp bütirat üretmektedir. Bunların yanında çeşitli antimikrobiyal maddeler sentezleyerek bağırsak mikrobiyotasının dengesini korumaktadır (130). Bu bakterinin bağırsak mikrobiyotasında artışıyla fermentasyon seviyesinde ve üretilen kısa zincirli yağ asitlerinde de artış görülmektedir. Buna bağlı olarak glukoz miktarı azalmakta ve kan glukoz seviyesi düşmektedir. *Eubacterium*'la ilgili yapılan çalışmalarda insülin direnci üzerine olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (131).

LEfSe analizi sonucunda Ramazan öncesinde Prevotella, ramazan bitiminde Dialister ve Lachnospiraceae aileleri baskın bulunmuştur. Literatüre bakıldığında yapılan çalışmalarda Prevotella'nın prediyabetik bireylerde, kontrollerle karşılaştırıldığında daha baskın olduğu bildirilmiştir (132). Farelerde yapılan bir çalışmada Lachnospiraceae ailesi diyabetik grupta, kontrole kıyasla yüksek bulunmuştur (133). Lachnospiraceae fırsatçı patojen olarak da bilinmektedir (132).

Random forest sınıflandırma tekniğiyle yapılan analiz sonucunda Dorea filumunun ramazan sonrası dönemde, ramazan öncesi döneme göre artış gösterdiği, *Subdoligranulum* ve *Eubacterium* türlerinin ise ramazan sonrasında baskın olduğu

gözlemlenmiştir. İnsülin direnci olan bireylere sağlıklı donörlerden fekal mikrobiyota transplantasyonu yapılan bir çalışmada, transplantasyondan 6 hafta sonra bireylerde *Eubacterium* türlerinin arttığı gözlemlenmiştir (134). Yapılan bir başka çalışmada tip 2 diyabet grubunda *Dorea* ve *Prevotella*'nın relatif baskınlığının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuş (132).

Ramazan sonunda Firmicutes filumunda anlamlı derecede artış ($p=0,01$) ve Bacteroidetes filumunda anlamlı derecede azalma ($p=0,01$) görülmüştür. Obezite ve diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda genellikle Firmicutes filumlarının obez ve diyabetik bireylerde fazla olduğu, Bacteroidetes filumunun ise azaldığı gösterilmiştir (135). Ancak buna zıt sonuçlar gösteren çalışmalar da mevcuttur (136,137).

Adonis ve CCA metotları sonucunda elde edilen verilerde *Bacteroides* cinsinin HDL ile doğru, trigliseritle ise ters orantıda olduğu gözlemlenmiştir. Spearman korelasyonunda cins düzeyi ve klinik parametrelerin ilişkisine bakıldığında, *Bacteroides* ve *Eubacterium* cinslerindeki artış ile HDL düzeyi arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Yapılan bir çalışmada hamile kadınların biyokimyasal parametreleri, kilo alımı ve vücut ağırlıklarıyla mikrobiyota değişimi arasındaki ilişki incelenmiştir. *Bacteroides* ve HDL kolesterol arasında pozitif korelasyon görülmüştür ($p<0,001$) (99).

8. SONUÇ

Bu çalışma literatürdeki oruç, prediyabet ve mikrobiyota ilişkisini açıklamaya çalışmıştır. Uzun süreli açlığın fizyolojiye yaptığı olumlu etkilerin mekanizması hala açıklanamamıştır. Mikrobiyotayla açlığın fizyolojik olarak etkileşimde olduğu bilinmektedir. Oruç tutan prediyabet grubunda yağ metabolizmasıyla ilgili parametrelerde düzelme görülürken glukoz metabolizmasında düzelme görülmemiştir. Hastaların egzersiz bilgileri, diyet bilgileri ve kullandıkları ilaçların bilgisi elimizde olmadığı için biyokimyasal verileri etkileyen faktörler hakkında yorum yapamamaktayız. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişimlere baktığımızda Proteobacteria filumunun oruç sonrası azalmasıyla patojenlerin azaldığı, *Eubacterium* gibi probiyotik potansiyele sahip mikroorganizmaların artmasıyla da mikrobiyotanın olumlu yönde düzeldiği görülmüştür.

Sonuç olarak oruç tutarak değişen mikrobiyotada *Eubacterium*, *Faecibacterium*, *Ruminococcus* gibi müsin döngüsünde ve KZYA üretiminde rol aldığı bilinen bakteri cinslerinde artış görüldüğü gözlemlenmiştir. Orucun, prediyabetlilerin en çok yağ metabolizmasının olumlu etkilediği hipotezini destekleyecek çalışmalar gerekmektedir. Ancak yaş, cinsiyet ve BKİ gibi güçlü karıştırıcı faktörler olduğundan gelecek çalışmalarda bu faktörlerin kontrol edilmesi gerekmektedir. Son olarak mikrobiyotanın kişiye özel tıp yaklaşımlarına uygun olduğu bu çalışmada teyit edilmiş oldu. Çünkü kohort katılımcıları tek tek incelendiğinde kümülatif sonuçların gölgesinde kalan mikrobiyota modülasyonu ile ilişkilendirilebilecek klinik faktörlerdeki iyileşmeleri görmek mümkün hale gelmiştir.

9. KAYNAKÇA

1. Strine TW, Okoro CA, Chapman DP, Beckles GLA, Balluz L, Mokdad AH. The impact of formal diabetes education on the preventive health practices and behaviors of persons with type 2 diabetes. *Prev Med (Baltim)*; 2005.
2. Timpson NJ, Lawlor D a., Harbord RM, Gaunt TR, Day INM, Palmer LJ, vd. C-reactive protein and its role in metabolic syndrome: mendelian randomisation study. *Lancet*. 2005.
3. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. 1999;643–8.
4. Gredilla R, Barja G. The role of oxidative stress in relation to caloric restriction and longevity. *Endocrinology*. 2005;146(9):3713–7.
5. Brandhorst S, Choi IY, Wei M, Cheng CW, Sedrakyan S, Navarrete G, vd. A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. *Cell Metab [Internet]*. 2015;22(1):86–99. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.012>
6. Boyacı İ, Yıldırım S. Metabolik Sendrom Tedavisinde Bağırsak Mikrobiyotasının Probiyotikler ve Özelinde *Saccharomyces Boulardii* ile Modülasyonu. *Anadolu Klin Tıp Bilim Derg [Internet]*. 2017;(11). Available at: <http://dergipark.gov.tr/doi/10.21673/anadoluklin.260702>
7. World Health Organisation. GLOBAL REPORT ON DIABETES. 2016; Available at: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/204871>
8. Ma RIGH, Bchir MB. Textbook of Diabetes [Internet]. 2017. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118924853>
9. Grant SFA, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, vd. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2006;

10. Giddens A, Sutton PW. IDF Diabetes Atlas [Internet]. sixth edit. International Diabetes Federation; Available at: www.idf.org/diabetesatlas
11. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, vd. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169–80.
12. American Diabetes Association (ADA). Standard of medical care in diabetes - 2017. *Diabetes Care.* 2017;40 (sup 1)(January):s4–128.
13. Türkiye Diyabet Vakfı. Diabetes Mellitus Tanı, Sınıflama ve İzlem İlkeleri. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2013. 2013. 17-23 s.
14. Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon)* [Internet]. 2014;42(12):698–702. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25568613>
15. Chatterjee M, Scobie I. The pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Pract Diabetes Int.* 2002;19(8):255–7.
16. Mell A, Kompl TUSVE, Tani K, Kilavuzu- Z. E ndokrinoloji ve M etabolizma D erneği İZLEM KILAVUZU-2013 [Internet]. 2013. Available at: 6. BASKI
17. Hubbard SR. The insulin receptor: Both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(3).
18. Schinner S, Scherbaum W a, Bornstein SR, Barthel a. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabet Med.* 2005;22(6):674–82.
19. Gribble FM. A higher power for insulin. *Nature.* 2005;434(7036):965–6.
20. White M. Insulin signaling in health and disease. *Science (80-)* [Internet]. 2003;302(December 2003):1710–2. Available at: <http://www.sciencemag.org/content/302/5651/1710.short>
21. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: Insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(2):85–96.

22. Boucher J, Kleinridders A, Ronald Kahn C. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(1).
23. Wang G. Raison d'être of insulin resistance: the adjustable threshold hypothesis. *J R Soc Interface* [Internet]. 2014;11(101):20140892–20140892. Available at: <http://rsif.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsif.2014.0892>
24. Odegaard J, Chawla a. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science* (80-) [Internet]. 2013;339(6116):172–7. Available at: <http://www.sciencemag.org/content/339/6116/172.short>
25. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* [Internet]. 2013;7(1):14–24. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11684-013-0262-6>
26. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, vd. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* [Internet]. 2003;112(12):1821–1830. Available at: <http://www.jci.org/cgi/content/abstract/112/12/1821>
27. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* [Internet]. 2004;92(03):347. Available at: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114504001795
28. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* (80-). 2005;307(5708):384–7.
29. Kaphingst KA, Persky S, Lachance C. Foxo1 integrates insulin signaling with mitochondrial function in the liver. 2010;14(4):384–99.
30. Long YC, Cheng Z, Copps KD, White MF. Insulin Receptor Substrates Irs1 and Irs2 Coordinate Skeletal Muscle Growth and Metabolism via the Akt and AMPK Pathways. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2011;31(3):430–41. Available at:

<http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.00983-10>

31. Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM. Science in medicine AMPK , insulin resistance , and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2013;123(7):2764–72.
32. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect* [Internet]. 2014;4(1):R1–15. Available at: <http://www.endocrineconnections.com/cgi/doi/10.1530/EC-14-0092>
33. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed J. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* [Internet]. 2005;115(10):2656–64. Available at: <http://www.jci.org/cgi/content/abstract/115/10/2656>
34. Ma Y, Hendershot LM. ER chaperone functions during normal and stress conditions. *J Chem Neuroanat*. 2004;28(1–2):51–65.
35. Yalcin A, Hotamisligil GS. Impact of ER protein homeostasis on metabolism. *Diabetes*. 2013;62(3):691–3.
36. Hotamisligil GS. Endoplasmic Reticulum Stress and the Inflammatory Basis of Metabolic Disease. *Cell*. 2010;140(6):900–17.
37. Fu S, Watkins SM, Hotamisligil GS. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. *Cell Metab*. 2012;15(5):623–34.
38. Hu P, Han Z, Couvillon AD, Kaufman RJ, Exton JH. Autocrine Tumor Necrosis Factor Alpha Links Endoplasmic Reticulum Stress to the Membrane Death Receptor Pathway through IRE1 α -Mediated NF- κ B Activation and Down-Regulation of TRAF2 Expression. *Society*. 2006;26(8):3071–84.
39. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, vd. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* [Internet]. 2002;420(6913):333–6. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature01137>

40. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, vd. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikk β . *Science* (80-). 2001;293(5535):1673–7.
41. Guerrero-Hernández A, Leon-Aparicio D, Chavez-Reyes J, Olivares-Reyes JA, DeJesus S. Endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *Cell Calcium* [Internet]. 2014;56(5):311–22. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceca.2014.08.006>
42. Pasare C, Medzhitov R. Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin Action, and Type 2 Diabetes. *Science* (80-). 2003;299(February):1033–6.
43. Boden G, Song W, Duan X, Cheung P, Kresge K, Barrero C, vd. Infusion of glucose and lipids at physiological rates causes acute endoplasmic reticulum stress in rat liver. *Obesity* [Internet]. 2011;19(7):1366–73. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2011.71/nature06264>
44. Sharma NK, Das SK, Mondal AK, Hackney OG, Chu WS, Kern PA, vd. Endoplasmic Reticulum Stress Markers Are Associated with Obesity in Nondiabetic Subjects. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008;93(11):4532–41. Available at: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2008-1001>
45. Gregor MF, Yang L, Fabbrini E, Mohammed BS, Eagon JC. Endoplasmic Reticulum Stress Is Reduced in Tissues of. *Diabetes*. 2009;58:693–700.
46. Özcan U, Yilmaz E, Özcan L, Furuhashi M, Vaillancourt E, Smith RO, vd. Chemical Chaperones Reduce ER Stress and Restore Glucose Homeostasis in a Mouse Model of Type 2 Diabetes Published by : American Association for the Advancement of Science Linked references are available on JSTOR for this article : *Chemical Chaperones Cha*. 2016;313(5790).
47. Ozawa K, Miyazaki M, Matsuhisa M, Takano K, Nakatani Y, Hatazaki M, vd. The Endoplasmic Reticulum Chaperone Improves Insulin Resistance in Type

- 2 Diabetes. 2005;54(March):657–63.
48. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka TA, vd. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem*. 2005;280(1):847–51.
49. Caspersen C, Pedersen PS, Treiman M. The sarco/endoplasmic reticulum calcium-ATPase 2b is an endoplasmic reticulum stress-inducible protein. *J Biol Chem*. 2000;275(29):22363–72.
50. Park SW, Zhou Y, Lee J, Lee J, Ozcan U. Sarco(endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 2b is a major regulator of endoplasmic reticulum stress and glucose homeostasis in obesity. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2010;107(45):19320–5. Available at: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1012044107>
51. Randriamboavonjy V, Pistrosch F, Bölck B, Schwinger RHG, Dixit M, Badenhoop K, vd. Platelet sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and μ -calpain activity are altered in type 2 diabetes mellitus and restored by rosiglitazone. *Circulation*. 2008;117(1):52–60.
52. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, vd. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25(9):1551–6.
53. Burton JH, Johnson M, Johnson J, Hsia DS, Greenway FL, Heiman ML. Addition of a Gastrointestinal Microbiome Modulator to Metformin Improves Metformin Tolerance and Fasting Glucose Levels. *J Diabetes Sci Technol [Internet]*. 2015;9(4):808–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25802471>
54. de Luis DA, Sagrado MG, Conde R, Aller R, Izaola O. Relation of visfatin to cardiovascular risk factors and adipocytokines in patients with impaired fasting glucose. *Nutrition*. 2013;

55. Sommer G, Garten A, Petzold S, Beck-Sickinger AG, Blüher M, Stumvoll M, vd. Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine. *Clin Sci*. 2008;
56. Jaleel M, Fathima F, Raza S, Jaleel BN. Ramadan and diabetes: As-Saum (The fasting). *Indian J Endocrinol Metab*. 2011;15(4):268.
57. Longo VD, Mattson MP. Fasting: Molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab* [Internet]. 2014;19(2):181–92. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.008>
58. Fontana L, Partridge L, Longo VDD. Extending healthy lifespan - from yeast to humans. *Science* (80-). 2013;
59. Antosh M, Whitaker R, Kroll A, Hosier S, Chang C, Bauer J, vd. Comparative transcriptional pathway bioinformatic analysis of dietary restriction, Sir2, p53 and resveratrol life span extension in *Drosophila*. *Cell Cycle*. 2011.
60. Cheng CW, Adams GB, Perin L, Wei M, Zhou X, Lam BS, vd. Prolonged fasting reduces IGF-1/PKA to promote hematopoietic-stem-cell- based regeneration and reverse immunosuppression. *Cell Stem Cell*. 2014;
61. Guevara-Aguirre J, Balasubramanian P, Guevara-Aguirre M, Wei M, Madia F, Cheng CW, vd. Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans. *Sci Transl Med*. 2011;
62. Patterson RE, Sears DD. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. *Annu Rev Nutr*. 2017;37(1):371–93.
63. Carlson AJ, Hoelzel F. Apparent prolongation of the life span of rats by intermittent fasting. *J Nutr*. 1946;
64. Hartman AL, Rubenstein JE, Kossoff EH. Intermittent fasting: A “new” historical strategy for controlling seizures? *Epilepsy Res* [Internet].

2013;104(3):275–9.

Available

at:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2012.10.011>

65. Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, vd. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*. 2009;
66. Harvie MN, Pegington M, Mattson MP, Frystyk J, Dillon B, Evans G, vd. The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. *Int J Obes (Lond)*. 2011;
67. Lim EL, Hollingsworth KG, Aribisala BS, Chen MJ, Mathers JC, Taylor R. Reversal of type 2 diabetes: Normalisation of beta cell function in association with decreased pancreas and liver triacylglycerol. *Diabetologia*. 2011;
68. Beckman J, Creager M, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Jama*. 2002;
69. Siaw MYL, Chew DEK, Toh MPHS, Seah DEJ, Chua R, Tan J, vd. Metabolic parameters in type 2 diabetic patients with varying degrees of glycemic control during Ramadan: An observational study. *J Diabetes Investig*. Ocak 2016;7(1):70–5.
70. Horne BD, Muhlestein JB, May HT, Carlquist JF, Lappe DL, Bair TL, vd. Relation of routine, periodic fasting to risk of diabetes mellitus, and coronary artery disease in patients undergoing coronary angiography. *Am J Cardiol*. 2012;109(11):1558–62.
71. Gnanou J V, Caszo BA, Khalil KM, Abdullah SL, Knight VF, Bidin MZ. Effects of Ramadan fasting on glucose homeostasis and adiponectin levels in healthy adult males. *J Diabetes Metab Disord*. Ocak 2015;14:55.
72. Khaled BM, Bendahmane M, Belbraouet S. Ramadan fasting induces modifications of certain serum components in obese women with type 2 diabetes. *Saudi Med J*. 2006;27(1):23–6.

73. Mafauzy M, Mohammed WB, Anum MY, Zulkifli A, Ruhani AH. A study of the fasting diabetic patients during the month of Ramadan. *Med J Malaysia*. 1990;45(1):14–7.
74. Faris “Mo’ez Al-Islam” E., Kacimi S, Al-Kurd RA, Fararjeh MA, Bustanji YK, Mohammad MK, vd. Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. *Nutr Res*. 2012;32(12):947–55.
75. Noon MJ, Khawaja HA, Ishtiaq O, Khawaja Q, Minhas S, Niazi AK, vd. Fasting with diabetes: a prospective observational study. *BMJ Glob Heal*. 2016;1(2):e000009.
76. Blandino G, Inturri R, Lazzara F, Di Rosa M, Malaguarnera L. Impact of gut microbiota on diabetes mellitus. *Diabetes Metab [Internet]*. 2016; Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabet.2016.04.004>
77. Neish AS. Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology*. 2009.
78. Ma Y-Y, Li L, Yu C-H, Shen Z, Chen L-H, Li Y-M. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2013;
79. Zietek T, Rath E. Inflammation meets metabolic disease: Gut feeling mediated by GLP-1. *Frontiers in Immunology*. 2016.
80. Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A, Meli R. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: Focus on molecular and biochemical mechanisms. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011.
81. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005.
82. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, vd. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science (80-)*. 2005;

83. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper L V, Koh GY, Nagy A, vd. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;
84. Roopchand DE, Carmody RN, Kuhn P, Moskal K, Rojas-Silva P, Turnbaugh PJ, vd. Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *akkermansia muciniphila* and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes*. 2015;
85. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012.
86. Carvalho BM, Abdalla Saad MJ. Influence of Gut microbiota on subclinical inflammation and insulin resistance. *Mediators of Inflammation*. 2013.
87. Nair S, Cope K, Terence RH, Diehl AM. Obesity and female gender increase breath ethanol concentration: Potential implications for the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;
88. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, vd. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012;
89. Bennion LJ, Grundy SM. Effects of Diabetes Mellitus on Cholesterol Metabolism in Man. *N Engl J Med*. 1977;
90. Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;
91. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Molecular Aspects of Medicine*. 2013.
92. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Neyrinck AM, Delzenne NM. Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008;57(6):1470–81.

93. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, vd. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;
94. Brun P, Castagliuolo I, Leo V Di, Buda A, Pinzani M, Palu G, vd. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;
95. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, vd. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;
96. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermúdez-Humarán LG, vd. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: Molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med*. 2011;
97. Vieira AT, Teixeira MM, Martins FS. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Frontiers in Immunology*. 2013.
98. Larsen N, Vogensen FK, Van Den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, vd. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010;5(2).
99. Santacruz A, Marcos A, Wärnberg J, Martí A, Martín-Matillas M, Campoy C, vd. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obesity*. 2009;
100. Ley R, Turnbaugh P, Klein S, Gordon J. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* [Internet]. 2006;444(7122):1022–3. Available at: <http://europepmc.org/abstract/MED/17183309>
101. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JFWM, vd. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*.

2012;

102. Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2007;
103. Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology.* 2009;
104. Himes RW, Smith CW. Tlr2 is critical for diet-induced metabolic syndrome in a murine model. *FASEB J.* 2010;
105. Tsukumo DML, Carvalho-Filho MA, Carvalheira JBC, Prada PO, Hirabara SM, Schenka AA, vd. Loss-of-function mutation in toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;
106. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, vd. Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science (80-).* 2010;
107. Miura K, Ohnishi H. Role of gut microbiota and Toll-like receptors in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(23):7381–91.
108. Everard A, Geurts L, Caesar R, Van Hul M, Matamoros S, Duparc T, vd. Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat Commun.* Aralık 2014;5:5648.
109. Björkbacka H, Kunjathoor VV, Moore KJ, Koehn S, Ordija CM, Lee MA, vd. Reduced atherosclerosis in MyD88-null mice links elevated serum cholesterol levels to activation of innate immunity signaling pathways. *Nat Med.* 2004;
110. Tomita K, Tamiya G, Ando S, Ohsumi K, Chiyo T, Mizutani A, vd. Tumour necrosis factor alpha signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Gut.* Mart 2006;55(3):415–24.

111. Shen J, Arnett DK, Peacock JM, Parnell LD, Kraja A, Hixson JE, vd. Interleukin1beta genetic polymorphisms interact with polyunsaturated fatty acids to modulate risk of the metabolic syndrome. *J Nutr.* 2007;
112. Chacón MR, Fernández-Real JM, Richart C, Megía A, Gómez JM, Miranda M, vd. Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Obesity and Type 2 Diabetes. *Insulin Sensitivity Study**. *Obesity.* Mart 2007;15(3):664–72.
113. Wu H, Tremaroli V, Bäckhed F. Linking Microbiota to Human Diseases: A Systems Biology Perspective. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 2015.
114. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr.* 2014;
115. Deitch EA, Winterton J, Berg R. Effect of Starvation, Malnutrition, and Trauma on the Gastrointestinal Tract Flora and Bacterial Translocation. *Arch Surg.* 1987;
116. Kohl KD, Amaya J, Passemant CA, Dearing MD, Mccue MD. Unique and shared responses of the gut microbiota to prolonged fasting: A comparative study across five classes of vertebrate hosts. *FEMS Microbiol Ecol.* 2014;
117. Sonoyama K, Fujiwara R, Takemura N, Ogasawara T, Watanabe J, Ito H, vd. Response of gut microbiota to fasting and hibernation in Syrian hamsters. *Appl Environ Microbiol.* 2009;
118. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004;
119. Costello EK, Gordon JI, Secor SM, Knight R. Postprandial remodeling of the gut microbiota in Burmese pythons. *ISME J.* 2010;
120. Hiro-Omi Y, Hisae M, Mitsuhiro F. Changes in body composition of germ-

- free and conventional chickens during starvation. *Comp Biochem Physiol -- Part A Physiol*. 1992;
121. Crawford PA, Crowley JR, Sambandam N, Muegge BD, Costello EK, Hamady M, vd. Regulation of myocardial ketone body metabolism by the gut microbiota during nutrient deprivation. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;
 122. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* [Internet]. 2011;17(1):10. Available at: <http://journal.embnet.org/index.php/embnetjournal/article/view/200>
 123. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, vd. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75(23):7537–41.
 124. Nematy M, Alinezhad-Namaghi M, Rashed MM, Mozhdehifard M, Sajjadi SS, Akhlaghi S, vd. Effects of Ramadan fasting on cardiovascular risk factors: a prospective observational study. *Nutr J* [Internet]. 2012;11(1):69. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3487759&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 125. Karatoprak C, Yolbas S, Cakirca M, Cinar A, Zorlu M, Kiskac M, vd. The effects of long term fasting in Ramadan on glucose regulation in type 2 diabetes mellitus. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(18):2512–6.
 126. Bener A, Yousafzai MT. Effect of Ramadan fasting on diabetes mellitus: a population-based study in Qatar. *J Egypt Public Health Assoc* [Internet]. 2014;89(2):47–52. Available at: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=mesx&NEWS=N&AN=25162734>
 127. Jiao N, Baker SS, Nugent CA, Tsompana M, Cai L, Wang Y, vd. Gut Microbiota in Health and Disease Gut microbiome may contribute to insulin

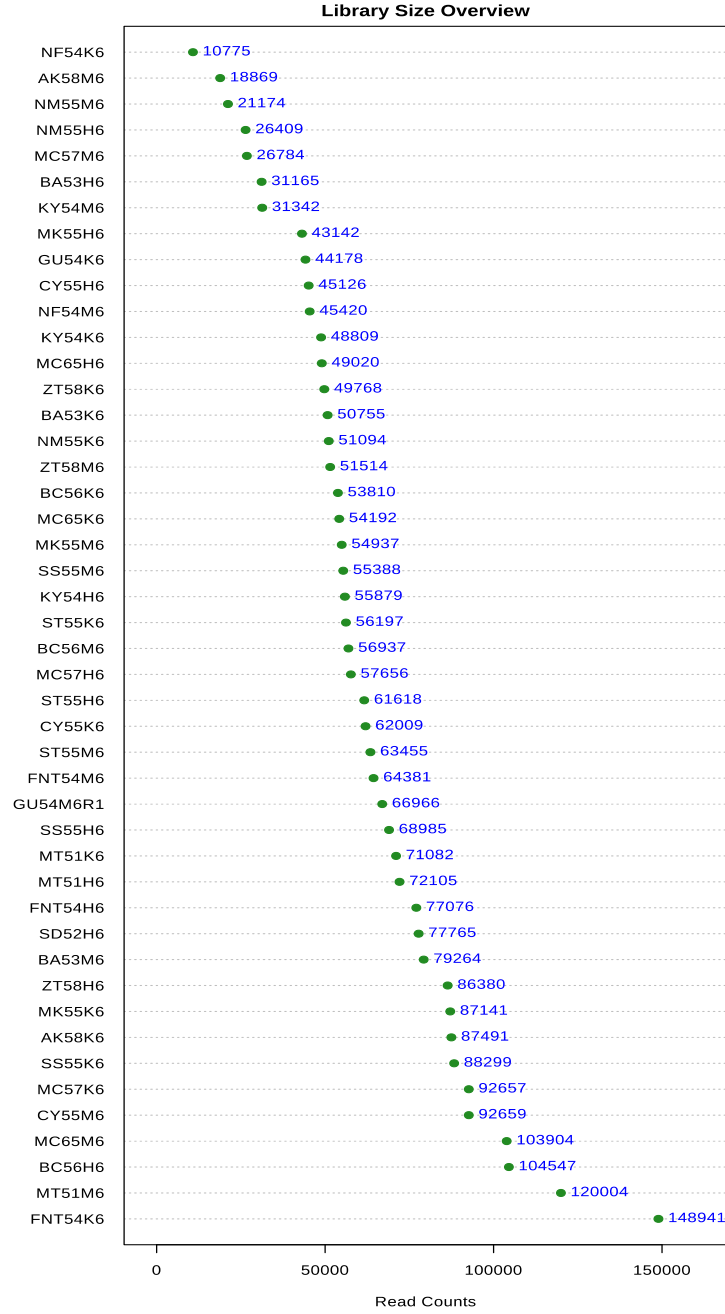
resistance and systemic inflammation in obese rodents : a meta-analysis. 2018;(49):244–54.

128. Shin N, Whon TW, Bae J. Proteobacteria : microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. Trends Biotechnol [Internet]. 2015;1–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.011>
129. Cockburn DW, Orlovsky NI, Foley MH, Kwiatkowski KJ, Bahr CM, Maynard M, vd. HHS Public Access. C. 95. 2016. 734-764 s.
130. Engels C, Ruscheweyh HJ, Beerenwinkel N, Lacroix C, Schwab C. The common gut microbe *Eubacterium hallii* also contributes to intestinal propionate formation. Front Microbiol. 2016;7(MAY):1–12.
131. Udayappan S, Manneras-Holm L, Chaplin-Scott A, Belzer C, Herrema H, Dallinga-Thie GM, vd. Oral treatment with *Eubacterium hallii* improves insulin sensitivity in db/db mice. npj Biofilms Microbiomes [Internet]. 2016;2(May). Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.9>
132. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C. Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. 2013;8(8).
133. Krych Ł, Nielsen DS, Hansen AK, Hansen CHF, Krych Ł, Nielsen DS, vd. Gut microbial markers are associated with diabetes onset , regulatory imbalance , and IFN- g level in NOD Mice. 2015;0976.
134. Kootte RS, Levin E, Stroes ESG, Groen AK, Nieuwdorp M, Smits LP, vd. Clinical and Translational Report Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition Clinical and Translational Report Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor. 2017;611–9.
135. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci. 2005;

136. Carvalho BM, Guadagnini D, Tsukumo DML, Schenka AA, Latuf-Filho P, Vassallo J, vd. Modulation of gut microbiota by antibiotics improves insulin signalling in high-fat fed mice. *Diabetologia*. 2012;
137. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, vd. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010;

10. EKLER

Ek 1



Miseq cihazında dizinleme sonucunda elde edilen her örnekteki 16s rRNA amplicon okuma sayısı. Kalite kriterlerine uymayan amplicon dizinleri analizlere alınmamıştır.

11. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 10840098-604.01.01-E.15626
Konu : Etik Kurulu Hk.

08/06/2018

Sayın Dr. Öğr. Üyesi İhsan BOYACI

Üniversitemizin Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 23/06/2016 tarihli 352 karar no ile onay verilen “Ramazan Orucunun Glisemik Düzeylerine Göre Ayrılmış Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarının Metabolik Parametreleri Üzerindeki Etkisi” isimli çalışmanın başlığını “Ramazan Orucunun Prediyabet Hastalarının Metabolik Parametreleri ve Mikrobiyota Değişimleri Üzerine Etkisi” olarak değiştirilmesi isteğiniz uygun bulunmuş olup, kayıt altına alınmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 08.06.2018 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağımızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden B4EC35D4XE kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr

Etik Kurul Onayı (devam)



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 10840098-604.01.01-E.9264
Konu : Etik Kurulu Kararı

23/06/2016

Sayın Yrd. Doç. Dr. İhsan BOYACI

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "Ramazan Orucunun Glisemik Düzeylerine Göre Ayrılmış Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarının Metabolik Parametreleri Üzerindeki Etkisi" isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

EK:
-Karar Formu (2 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 23.06.2016 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden C61C4255X0 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacak Mah. Ekinciler Cad.No:19 Kavacak Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr

Etik Kurul Onayı (devam)

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ramazan Orucunun Glisemik Düzeylerine Göre Ayrılmış Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarının Metabolik Parametreleri Üzerindeki Etkisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. İhsan Boyacı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İç Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Onayı (devam)

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	30.05.2016		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	30.05.2016		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
Karar Bilgileri	Karar No: 352	Tarih: 22/06/2016		
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekeçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	Eczacılık	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK	Farmakoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Sibel DOĞAN	Psiko-onkoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Devrim TARAKCI	Ergoterapi	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ilknur KESKİN	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Dr. Mehmet Hikmet ÜÇİŞİK	Biyoteknoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

12. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Fatma	Soyadı	KOÇ
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	16.11.1994
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	
E-mail	koc.fatmaa@gmail.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans		
Yandal	İstanbul Medipol Üniversitesi- Sağlık Yönetimi	2017
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi- Beslenme ve Diyetetik	2016
Lise	Rotary 100. Yıl Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi

Görev	Kurum	Süre (Yıl)
İdari Personel	İstanbul Medipol Üniversitesi- Uluslararası Tıp Fakültesi	2016-halen

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok iyi

Yabancı Dil Sınav Notu								
KPDS	YÖKDİL/ YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	72,5							

☐☐☐ Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

☐☐ KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; YDS: Yabancı Dil Bilgisi Seviye Tespit Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	76	75	69
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
SPSS	iyi
Microsoft Office	iyi
Endnote	iyi
BeBis	çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikalari/Ödülleri/Diğer

1. Altun E, Aydogdu MO, **Koc F**, Kutlu O, Gozuacik D, Yucel S, Gunduz O. *Amoxicillin loaded hollow microparticles in the treatment of osteomyelitis disease using single-nozzle electrospinning*. BioNanoScience, July, 2018.
2. Idug T, Hizli H, Sen A, **Koc F**. *In vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Some Berry Species*. Acta Pharmaceutica Scientia, (accepted).
3. Nalbantoglu OU, Sezgin B, Gundogdu A, **Koc F**, Gol MF, Korkmaz D, Soylu AE, Velioglu HZ, Gurpinar EA, Sogukkanli K, Hanoglu L, Koseoglu E, Yildirim S. *Comparison of Gut Microbiota in Patients of Mild-Cognitive Impairment and Alzheimer's disease with Normal Controls: A Multicenter Study*. 7th International Human Microbiome Congress. 26-28 July, 2018. Killarney, Ireland. Poster Presentation.
4. Aydogdu MO, Altun E, Crabbe-Mann M, Brako F, **Koc F**, Ozen G, Kuruca SE, Edirisinghe U, Luo CJ, Gunduz O, Edirisinghe M. *Cellular Interactions with Bacterial Cellulose – Polycaprolactone Nanofibrous Scaffolds Produced by Portable Electrohydrodynamic Gun for Point-of-Need Wound Dressing*. International Wound J., May, 2018.
5. Altun E, Aydoğdu MO, **Koc F**, Crabbe-Mann M, Brako F, Kaur-Matharu R, Özen G, Kuruca SE, Edirisinghe U, Gunduz O, Edirisinghe M. *Novel Making of Bacterial Cellulose Blended Polymeric Fiber Bandages*. Macromolecular Materials & Eng. March, 2018.
6. Er S, Erim UC, **Koc F**, Kivanc M. *Identifying Probiotic Characteristics of Lactobacillus Crispatus Isolated From the Vagina*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, (accepted).
7. **Koç F**, Kandilci M. *Uzun Süreli Açlığın Diyabet Üzerine Etkisi*. 2. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Kongresi. 23-26 Kasım 2017. İstanbul. Poster Sunumu.
8. Kandilci M, **Koç F**. *Obezite Oksidatif Stres*. 2. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Kongresi. 23-26 Kasım 2017. İstanbul. Poster Sunumu.
9. Hızlı H, İduğ T, **Koç F**, Zerek E. *Kuru ve Taze Üzümsü Meyvelerde Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi*. 2. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Kongresi. 23-26 Kasım 2017. İstanbul. Poster Sunumu.
10. Kandilci M, **Koç F**. *Fitosteroller*. 2. Ulusal Beslenme ve Diyetetik Kongresi. 23-26 Kasım 2017. İstanbul. Poster Sunumu.
11. Aydogdu ME, Altun E, Cetin G, **Koç F**, Gündüz O. *Polycaprolactone/ Silver nitrate/ Zinc Oxide nanofiber composites via co-axial electrospinning*. “13th

International Conference on Materials Chemistry (MC13)", 10-13 July 2017, Liverpool, UK, Poster Presentation.

12. Er S, **Koç F**, Erim ÜC, Kıvanç M. *Vajinadan İzole Edilen Lactobacillus Fermentum I'in Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi*. 5. Pediatrik Probiyotik Prebiyotik Akademisi: Hedef Sağlıklı Mikrobiyota. 23-26 Şubat 2017. Trabzon. Sözlü Sunum, Bildiri Kitabı. s: 91.
13. **Koç F**, Toğay S. *Ev Yapımı Turşulardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Potansiyellerinin Araştırılması*. Türkiye 12. Gıda Kongresi. 5-7 Ekim 2016. Trakya Üniversitesi Edirne, Poster Sunumu, Bildiri Kitabı, s:423.
14. İduğ T, Hızlı H, Özdatlı Ş, **Koç F**. *Bazı Bitki Çayı Karışımlarının Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi*. 22. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 31 Ağustos-5 Eylül 2016, Trabzon. Poster Sunumu, Bildiri Kitabı. s:101.
15. Mert F, **Koç F**, Toğay S, Ağel E. *Determination of The Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Obtained from Traditionally Fermented Turkish Foods*. The 3rd International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus", 1-4 October 2015, Sarajevo-Bosnia and Hersegovina, Poster Presentation, Book of Abstract, p:587.
16. **Ev Yapımı Turşulardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Kültür Potansiyellerinin Araştırılması**, TÜBİTAK 2209-A, **Yürütücü**, Proje no: 1919B011501789, Bütçe: 2500 TL, 2015-2016.