



**T.C.**

**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI**

**OBEZ VE SAĞLIKLI BİREYLERİN BAĞIRSAK  
MİKROBİYOTASININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Mehmet Burak ÖZTÜRK**

**UZMANLIK TEZİ**

**SIVAS**

**2019**





**T.C.**

**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI**

**OBEZ VE SAĞLIKLI BİREYLERİN BAĞIRSAK  
MİKROBİYOTASININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Mehmet Burak ÖZTÜRK**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Yeltekin DEMİREL**

**SIVAS**

**2019**

## ONAY SAYFASI

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Aile Hekimliği Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İMZA

Prof. Dr. Yeltekin DEMİREL

Dr. Öğr. Üyesi Sanem NEMMEZİ KARACA

Dr. Öğr. Üyesi Nagehan YILDIZ ÇELTEK

Bu tez, ..... tarih ve .....sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları olan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

**Tıp Fakültesi Dekanı**  
Prof. Dr. İlhan ÇETİN



Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010 / 1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir. Bu tez bu yönetmelik hükümlerine göre yazılmıştır.

## TEŞEKKÜR

*Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman başvursam sabırla ve ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden geleni yapan, kendisinden almış olduğum eğitimle meslek hayatım boyunca kullanacağım birçok bilgiyle donanmama vesile olan, bilgisinden ve tecrübesinden her zaman yararlandığım tez danışmanım ve kıymetli hocam, Sayın Prof. Dr. Yeltekin DEMİREL' e*

*Sıkıntılı tez sürecimde beni motive eden, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen, tecrübelerini ve desteklerinden her zaman yararlandığım değerli hocam, Dr. Öğr. Üyesi Sanem NEMMEZİ KARACA' ya,*

*Desteklerinden dolayı değerli hocalarım Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ ve Doç. Dr. Mahir BUDAK' a,*

*Tezimin planlanması ve değerlendirilmesinde katkıları olan, sabır ve ilgiyle desteğini esirgemeyen, her zaman güler yüzüyle beni karşılayan değerli hocam, Dr. Öğr. Üyesi Ziyet ÇINAR' a,*

*Tez sürecimde moral ve motivasyon desteği veren, yanımda olan değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm mesai arkadaşlarıma,*

*Tezimin her aşamasında desteği ve sevgisiyle yanımda olan, varlığıyla bana güç veren, hayatımdaki en büyük şansım sevgili eşim Elif' e,*

*En büyük neşe kaynağım, hayatıma değer katan canım kızım Gülce' ye,*

*Hayatım boyunca desteklerini gördüğüm, her zor anımda yanımda olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, çok sevdiğim kıymetli anneme, babama ve canım kardeşime,*

Çok teşekkür ederim...  
Dr. Mehmet Burak ÖZTÜRK  
Sivas, 2019

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
GRAFİKLER DİZİNİ.....	x
ÖZET .....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Bağırsak Mikrobiyota İçeriği.....	5
2.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Enerji Metabolizması .....	6
2.2.1. Artmış Enerji Metabolizması.....	6
2.2.2. Bakteriyel Fermentasyon.....	6
2.2.3. KZYA'ların Metabolizması.....	8
2.2.4. Toll Like Reseptör (TLR)- 5.....	9
2.3. Obezite ile ilişkili inflamasyonda bağırsak mikrobiyotasının rolü .....	10
2.3.1. Metabolik Endotoksemi.....	10
2.3.2. Metabolik Bakteriyemi.....	12
2.3.3. Bağırsağın Bariyer Fonksiyonu .....	13
2.4. Mikrobiyota İçeriğini Etkileyen Faktörler .....	17
2.5. Bağırsak Mikrobiyota İçeriğinde, Fonksiyonlarında ve Metabolizmasında Obezite ile İlişkili Meydana Gelen Değişiklikler.....	19
2.5.1. Sınıf Düzeyinde Değişiklikler.....	19
2.5.2. Fırsatçı Patojenler ve KZYA üreticileri .....	20
2.5.3. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler obezitenin sebebi mi yoksa sonucu mu?21	
2.6. Mikrobiyotayı Etkileyen Tedavi Ajanları .....	24

2.6.1. Probiyotikler .....	24
2.6.2. Prebiyotikler.....	26
2.6.3. Antibiyotikler .....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	30
3.1. Etik Kurul İzni .....	30
3.2.Örneklemin Belirlenmesi ve Çalışmanın Akışı .....	30
3.3. Metagenomik DNA İzolasyonu .....	31
3.4. PZR Uygulamaları ile 16S rRNA geninin Amplifikasyonu ve Dizilenmesi.....	33
3.5. Biyoinformatik Analizler .....	33
3.6. İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR .....	35
5. TARTIŞMA .....	55
6. KISITLILIKLAR.....	61
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
9. KAYNAKLAR.....	64
10. ÖZGEÇMİŞ.....	80
11. EKLER.....	81



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo-1:</b> Obez hastaların ve Kontrol grubunun antropometrik ve klinik parametreleri.....	31
<b>Tablo-2:</b> Bakterial 16S ribosomal DNA'ya ait primerler .....	33
<b>Tablo-3:</b> Obezite hastası ve kontrol grubunun antropometrik parametreleri.....	35
<b>Tablo-4:</b> Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin filum düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol) .....	42
<b>Tablo-5:</b> Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin sınıf düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol) .....	44
<b>Tablo-6:</b> Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin takım düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol) .....	45
<b>Tablo-7:</b> Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin aile düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol) .....	47
<b>Tablo-8:</b> Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin cins düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol) .....	49

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil-1:</b> Bağırsak mikrobiyotasının konakçı metabolizması üzerine etkileri (7) (LPS: Lipopolisakkarid; KZY: Kısa Zincirli Yağ Asitleri).....	2
<b>Şekil-2:</b> Bağırsak mikrobiyomu ve insan genomu arasındaki etkileşimler (15) .....	3
<b>Şekil-3:</b> Bağırsak mikrobiyotası (21-23).....	5
<b>Şekil-4:</b> GLP-1 ve GIP'in etki mekanizması (67) .....	11
<b>Şekil-5:</b> Bağırsak mikrobiyotası ve diabet gelişimi (71) .....	14
<b>Şekil-6:</b> İntestinal mikrobiyotanın oluşumu ve gelişimi (Şekilde yer alan yeşil oklar faydalı değişiklikleri, kırmızı oklar faydasız değişiklikleri belirtmektedir.) (112). .....	18
<b>Şekil-7:</b> Mikrobiyotayı etkileyen faktörler (111). .....	18

## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik-1:</b> Yaşları farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	36
<b>Grafik-2:</b> Beden kitle indeksleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	36
<b>Grafik-3:</b> Beslenme şekilleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	36
<b>Grafik-4:</b> Obezite-kontrol grubundaki bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	37
<b>Grafik-5:</b> Eğitim durumu farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	37
<b>Grafik-6:</b> Egzersiz durumu farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	37
<b>Grafik-7:</b> Cinsiyetleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	38

<b>Grafik-8:</b> Probiyotik kullanımı farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	38
<b>Grafik-9:</b> Tuz kullanımı farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri.....	39
<b>Grafik-10:</b> Oluşturulan PCoA grafiği metadata içerisinde yer alan hasta ve kontrol grubuna göre renklendirilmiştir. Grafikteki kırmızılar kontrol grubunu, maviler ise obezite hastalığı olan grubu ifade etmektedir. ....	39
<b>Grafik-11:</b> Oluşturulan PCoA grafiği metadata içerisinde yer alan hasta ve kontrol grubuna göre renklendirilmiştir. Grafikteki kırmızılar kontrol grubunu, maviler ise obezite hastalığı olan grubu ifade etmektedir. ....	40
<b>Grafik-12:</b> “Two-sided Student’s t-test” sonuç grafiği.....	41
<b>Grafik-13:</b> Hasta ve kontrol grubunun Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun kontrol grubunu, Sarı sütun obezite grubunu göstermektedir.) .....	51
<b>Grafik-14:</b> Kadın ve erkek hasta grubunun Prevotella, Ruminococcaceae, Oscillospira ve Clostridium düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun erkek hasta grubunu, sarı sütun kadın hasta grubunu göstermektedir.) .....	52
<b>Grafik-15:</b> Sürekli ve bazen probiyotik kullanan hasta grubunun Peptococcaceae düzeyinin karşılaştırılması (Mavi sütun sürekli probiyotik kullanan hasta grubunu, sarı sütun bazen probiyotik kullanan hasta grubunu göstermektedir.).....	53
<b>Grafik-16:</b> Tuz kullanımına göre hasta gruplarının Parabacteroides ve Lachnobacterium düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun bazen tuz kullananları, sarı sütun sürekli tuz kullanımı olan grubu göstermektedir.) .....	54

## SİMGELER VE KISALTMALAR

**TÜİK:** Türkiye İstatistik Kurumu

**KZYA:** Kısa Zincirli Yağ Asitleri

**LPS:** Lipopolisakkarit

**GLP-1:** Glukagon Benzeri Peptid-1

**PYY:** Peptid YY

**SYAR:** Serbest Yağ Asit Reseptörü

**TLR:** Toll Like Receptor

**NF:** Nükleer Faktör

**T2D:** Tip 2 Diyabet

**IL:** İnterlökin

**TNF:** Tümör Nekroz Faktör

**GIP:** Gastrik İnhibitör Peptid

**NPY:** Nöropeptid Y

**ZO:** Zonula Ocludens

**IGF:** İnsülin Benzeri Growth Faktör

**MYD88:** Myeloid Diferantiation Primary-Response Protein 88

**NOD:** Nucleotide-Binding Oligomerization Domain

**NLR:** Nucleotid Like Receptor

**MDP:** Muramil Dipeptid

**ALP:** Alkalın Fosfataz

**MESO-DAP:** D-Glutamyl-Meso-Diaminopimelic Asid

**eCB:** Endokannabinoid

**AEA:** Anandamide

**AG:** Arachidonoylglycerol

**FAAH:** Fatty Acid Amide Hydrolase

**MGL:** Monacylglycerol Lipase

**VKİ:** Vücut Kitle İndeksi

**RELM $\beta$ :** Resistin Like Molecule  $\beta$

**XOS:** XY-Oligosaccharide

**OTU:** Operasyonel Taksonomik Birimler

**PD:** Phylogenetic Diversity

**FISH:** Fluorescence İn Situ Hybridization

**PZR:** Polimeraz Zincir Reaksiyon

## ÖZET

### **OBEZ VE SAĞLIKLI BİREYLERİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ KARŞILAŞTIRILMASI**

*Dr. Mehmet Burak ÖZTÜRK, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği AD, Sivas, 2019*

Son yıllarda prevalansı giderek artan obezite, günümüzde küresel boyutlara ulaşmış bir halk sağlığı sorunu olarak düşünülmektedir. Dünya genelinde 1975'ten beri obezite sıklığı artmaktadır. Son zamanlarda yapılan birçok deneysel çalışmada bu artıştan genetik ve çevresel faktörlere ilave olarak bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin de sorumlu olabileceği gösterilmiştir. İnsan mikrobiyotası 10-100 trilyon mikroorganizmadan oluşmaktadır. Bu sayı insan vücudundaki tüm hücre sayısının 10 katından fazladır. Her bireyde 160'tan fazla mikrobiyal sınıfın ve 1000-1150 arasında bakteri türünün olduğu tahmin edilmektedir.

Toplumumuzda beslenme alışkanlığı, fiziksel aktivite, hijyen vb. durumların farklılıkları ve bu konuda ülkemiz insanlarına ait bir çalışma olmamasıyla birlikte obezite ile sonuçlanabilen bu ilişkinin daha iyi kavranabilmesi amacıyla obez ve sağlıklı bireylerin oluşturduğu iki farklı grubun fekal bakteriyel konsantrasyonlarını karşılaştırdık ve bu konsantrasyonlara etki eden metabolik parametreleri belirlemeyi amaçladık.

Bu çalışma Eylül-Aralık 2018 tarihleri arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Aile Hekimliği polikliniğine başvuran 35-65 yaş arasındaki obez bireylerde yürütüldü. Çalışmamıza toplam 14 obezite hastası ve 12 sağlıklı kontrol grubu hastası dahil edildi. Obezite dışında başka bir kronik hastalığın varlığı (diyabet, hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, hipo/hipertiroidi, koroner arter hastalığı, insülin direncine neden olan polikistik over sendromu, akantozis nigrikans, lipotrofi/lipodistrofi sendromları vb. durumlar), alkol ve sigara kullanımı dışlama kriterleri olarak kullanıldı. Ayrıca çalışma amaçlı alınan dışkı örneklerinden önce son 3 ay içerisinde ilaç (antimikrobiyal, antipsikotik, probiyotik, prebiyotik vb.) kullanılmamış olmasına dikkat edildi. Yaşı 35'den küçük, 65'ten büyük olanlar, gebe veya emziren bayanlar, 3 aydan daha

kısa süreli cerrahi girişim öyküsü bulunanlar, eşlik eden herhangi bir hastalığı olanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışmamızın sonuçlarına cins düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %25,4 Bacteroides, %3,1 Parabacteroides, %44,6 Prevotella, %3,7 Prevotella (Paraprevotellacea ailesinden), %2,2 Succinivibrio'dan oluştuğunu görmekteyiz. Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Bacteroides'in kontrol grubunda (%29,1) obezite grubuna (%21,7) göre yüksek olduğu, Parabacteroides'in kontrol grubunda (%4,2) obezite grubuna (%2) göre yüksek olduğu, Prevotella'nın obezite grubunda (%53,6) kontrol grubuna (%35,7) göre yüksek olduğu, Succinivibrio'nun obezite grubunda (%3,6) kontrol grubuna (%0,8) göre yüksek olduğu ve Akermansia cinsi kontrol grubunda (%0,3) bulunurken obezite grubunda görülmediği anlaşılmaktadır. Ayrıca yine obezite ve kontrol grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinde anlamlı derecede farklılık saptandı. Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinin her ikisinde sırasıyla  $p=0,016$  ve  $p=0,036$  değerleriyle kontrol grubunda fazla olduğu görülmüştür.

Bağırsak mikrobiyotasındaki kantitatif değişiklikler obezitenin erken evrelerinden itibaren gözlenebilmektedir. Bu durum, metabolik hastalık risklerinin belirlenmesinde mikrobiyotanın bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Böylece, bağırsak mikrobiyotasının modifikasyonu ile obezite ortaya çıkmadan engellenebilecek veya geciktirilebilecektir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, devam edecek çalışmalarda bu hasta grubundaki farklı probiyotik yaklaşımlarına ve fekal transplantasyon tedavilerine yol gösterebilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** bağırsak, mikrobiyota, obezite

## **ABSTRACT**

### **COMPARISON OF INTESTINAL MICROBIOTA OF OBESIS AND HEALTHY INDIVIDUALS**

*Mehmet Burak ÖZTÜRK MD, Cumhuriyet University, School of Medicine, Department of Family Medicine, Sivas, 2019*

Obesity, whose prevalence has been increasing in recent years, is considered as a public health problem that has reached global dimensions. Worldwide, the prevalence of obesity has been increasing since 1975. Several recent experimental studies have shown that changes in the intestinal microbiota may be responsible for this increase in addition to genetic and environmental factors. The human microbiota consists of 10-100 trillion microorganisms. This number is more than 10 times the total number of cells in the human body. Each individual is estimated to have more than 160 microbial classes and between 1000 and 1150 bacterial species.

Nutritional habits in our society, physical activity, hygiene and so on. We compared the fecal bacterial concentrations of two different groups of obese and healthy individuals and aimed to determine the metabolic parameters affecting these concentrations in order to better understand this relationship, which may result in obesity.

This study was conducted on obese individuals between the ages of 35-65 who applied to the Family Medicine Clinic of Sivas Cumhuriyet University Medical Faculty Hospital between September 2018 and December 2018. A total of 14 obesity patients and 12 healthy control group patients were included in the study. Presence of chronic disease other than obesity (diabetes, hypertension, chronic renal failure, chronic liver disease, hypo / hyperthyroidism, coronary artery disease, insulin resistance-causing polycystic ovary syndrome, acanthosis nigricans, lipoatrophy / lipodystrophy syndromes, etc.) smoking was used as exclusion criteria. In addition, it was ensured that no drug (antimicrobial, antipsychotic, probiotic, prebiotic, etc.) was used in the last 3 months before the stool samples taken for study purposes. Patients younger than 35 years, older than 65 years, pregnant or



breastfeeding women, patients with a history of surgical intervention less than 3 months, and any accompanying disease were excluded from the study.

When the results of our study are examined at the genus level, we see that fecal bacterial samples consist of 25.4% *Bacteroides*, 3.1% *Parabacteroides*, 44.6% *Prevotella*, 3.7% *Prevotella* (*Paraprevotellacea* family) and *Succinivibrio* 2.2%. When the obesity and control groups were compared, *Bacteroides* was higher in the control group (29.1%) than the obesity group (21.7%), and *Parabacteroides* was higher in the control group (4.2%) than the obesity group (2%), *Prevotella* was higher in the obesity group (53.6%) than the control group (35.7%), *Succinivibrio* was higher in the obesity group (3.6%) than the control group (0.8%) and *Akermansia* was higher in the control group (0.3%), but not in the obesity group. In addition, when the fecal bacterial concentrations of the subjects were compared between obesity and control groups, a significant difference was found in *Rikenellaceae* and *Ruminococcaceae* levels. *Rikenellaceae* and *Ruminococcaceae* levels were higher in the control group with  $p = 0.016$  and  $p = 0.036$ , respectively.

Quantitative changes in the intestinal microbiota can be observed from the early stages of obesity. This suggests that microbiota can be used as a marker in determining metabolic disease risks. Thus, the modification of the intestinal microbiota can be prevented or delayed before obesity occurs. The data obtained from this study may lead to different probiotic approaches and fecal transplantation therapies in this patient group.

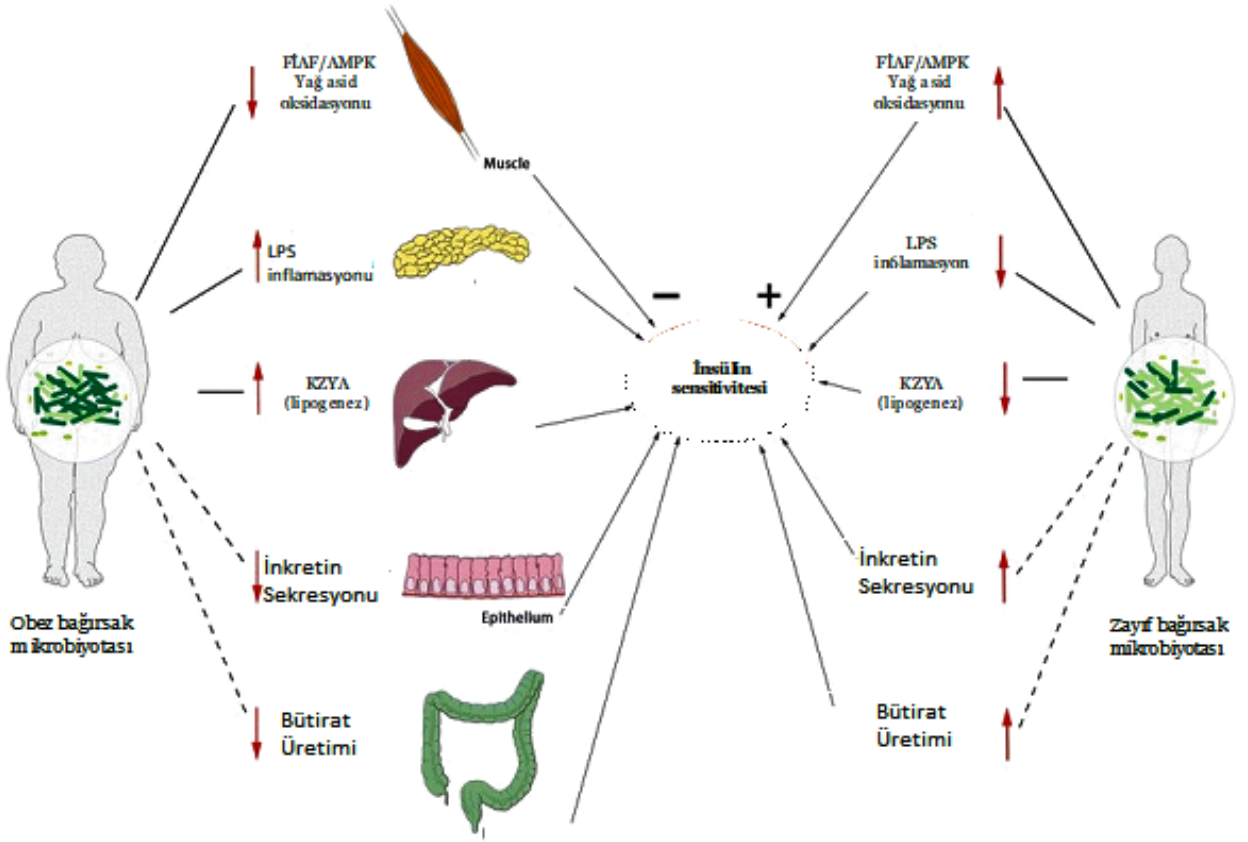
**Keywords:** intestinal, microbiota, obesity

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda prevalansı giderek artan obezite, günümüzde küresel boyutlara ulaşmış bir halk sağlığı sorunudur. Dünya genelinde 1975'ten beri obezite sıklığı artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2016 yılında 1.9 milyardan fazla insanın fazla kilolu, 650 milyonun üzerinde bireyin ise obez olduğu bildirilmektedir. Beş yaş altı 40 milyon çocuk ise fazla kilolu ve obez olarak saptanmıştır (1). Türkiye'de 2011 yılı sağlık verilerine bakıldığında ise neredeyse her beş yetişkinden birinin obez olduğu görülmüştür. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2015'te yayımladığı verilerine göre ülkemizde 2008 yılında % 15.2 olan obezite oranı 2016 yılına gelindiğinde % 29.5'e çıkmıştır (2). Obezite vücut sistemlerini ve psikososyal durumu etkileyerek sağlık problemlerine yol açmaktadır. Bu sebeple obezite hem halk sağlığını etkilemekte hem de ekonomik açıdan ciddi bir problem oluşturmaktadır. Obezite sonucu ağırlık artışı ile birlikte, bireylerin intestinal mikrobiyota kompozisyonunda da değişiklikler oluşmaktadır (3). Obezite ve ilişkili metabolik hastalıkların (tip 2 diyabet (T2D), yağlı karaciğer, kardiyovasküler hastalıklar vb.) dünya genelinde artan sıklığı, etiyolojik faktörlerin daha ayrıntılı araştırılmasına yol açmıştır. Etiyolojide kompleks genetik faktörler ve çevrenin (yüksek kalorili beslenme alışkanlığı, sedanter yaşam tarzı vb.) payı büyüktür. Buna karşın obez bireylerde enerji dengesinin bozulmasına yol açan moleküler etkileşimler ile ilgili daha birçok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (4).

Bu konu hakkında yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının obezite gelişimine katkısının olduğunu gösterilmiştir (5-8). Bu etkilerini hücresel düzeyde karmaşık moleküler ve biyolojik mekanizmalar aracılığıyla yaparlar (Şekil-1). Sindirilemeyen liflerin fermente edilerek kısa zincirli yağ asitlerine (KZYA) dönüştürülmesi, bağırsak hormon üretimini, bağırsak geçirgenliğinin ve bakteriyel translokasyonun artması (metabolik endotoksemi) patogenezden sorumlu tutulan mekanizmalardan bazılarıdır. Bu metabolik endotoksemi birçok metabolik hastalığın etiyolojisinde rol oynayan sistemik inflamasyon ile ilişkilidir. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotası konakçıyla doğrudan etkileşerek safra asidi, lipid ve aminoasit metabolizması veya konakçı gen ekspresyonu gibi farklı işlevleri düzenlemektedir (9-13). Böylece, insan metabolizması çevresel uyarılara yanıt olarak

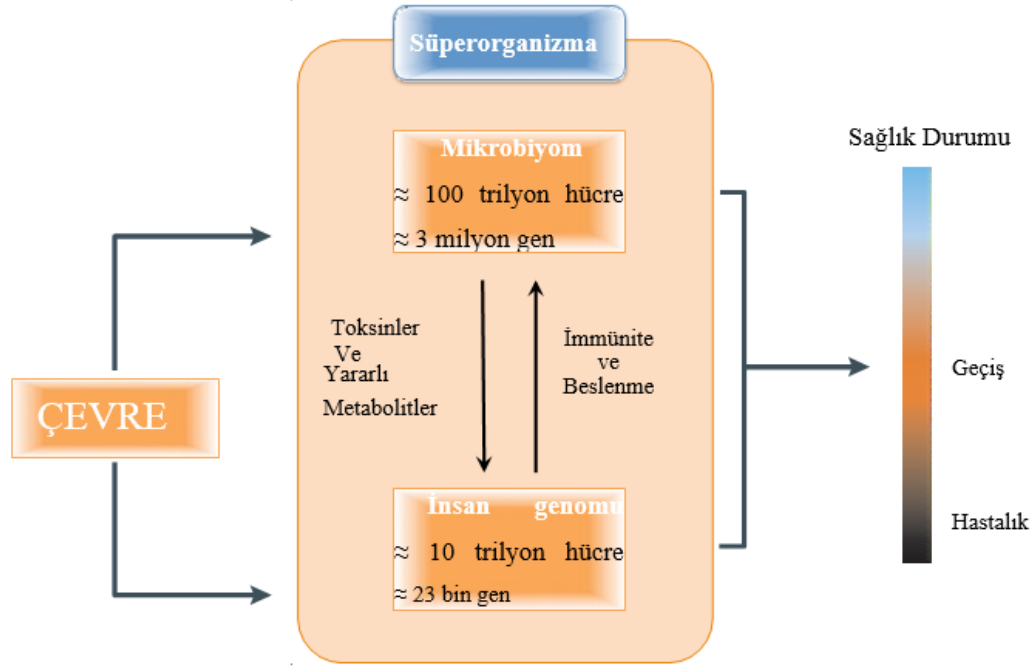
konakçı, bağırsak mikrobiyotası ve her ikisinin birbiriyle ilişkisi tarafından düzenlenmektedir. Bunlara ek olarak, lipopolisakkaridlerin (LPS) ve/veya yüksek yağ içerikli diyetin aktive ettiği endokannabinoid sistemde bu süreçte büyük rol oynamaktadır (14-16).



**Şekil-1:** Bağırsak mikrobiyotasının insan metabolizması üzerine etkileri (7) (LPS: Lipopolisakkarid; KZY: Kısa Zincirli Yağ Asitleri)

İnsanlar; %10'u insan hücrelerinden ve %90'ı mikrobiyal hücrelerden oluşan, 'süperorganizma' veya 'holobiont' olarak tanımlanabilen canlılardır (17). İnsan ve mikrobiyal genomlar ('hologenom') birlikte evrimleşmiş, olup insan metabolizması mikrobiyota metabolizması ile ortak ilişki içerisinde. Gastrointestinal sistem yaklaşık 200 m<sup>2</sup> yüzey alanı ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içermesi nedeniyle

kolonizasyon için uygun bir ortam teşkil etmektedir. Erişkin birey bağırsağında yaklaşık olarak  $10^{12-14}$  mikroorganizma bulunmaktadır. Bunların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmakta ve bunlar en yoğun olarak kalın bağırsakta lokalize olmaktadır (18). Bağırsak mikrobiyotasının çok az bir kısmını da ökaryotlar, arkaeler ve virüsler oluşturmaktadır. Arkaeler bakteriyel fermantasyonun etkinliğini arttıran ve böylece adipozite artışına neden olan metanojenik mikroorganizmalardır. Bağırsak mikrobiyomu (bağırsaktaki mikropların toplam genomu) 3,3 milyon geni kodlar ve bu rakam insan genlerinin toplamından 150 kat daha fazladır (19). İnsan genomu tarafından gerçekleştirilemeyen birçok farklı metabolik aktivite bu genetik zenginlik sayesinde olmaktadır (Şekil-2) (15,20).



**Şekil-2:** Bağırsak mikrobiyomu ve insan genomu arasındaki etkileşimler (15)

Bağırsak mikrobiyota içeriğinin fonksiyonel genlerindeki ve metabolik aktivitesindeki değişiklikler kişiden kişiye farklılık göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasını oluşturan mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulması obeziteyle ilişkili komplikasyonlara neden olabilmektedir. Ancak, birey ve toplum açısından önemli sosyal, medikal ve ekonomik problemler oluşturan bu metabolik bozukluklar ile vücudumuzun büyük bir bölümünü oluşturan bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki

hayvan çalışmalarında gösterilmiş olmasına karşın, insan çalışmalarında net olarak ortaya konamamıştır. İnsan çalışmalarında çevresel faktörlerin tam olarak standardize edilememesi ve farklı mikrobiyolojik yöntemler kullanılması bu belirsizliğin başlıca sebepleridir.

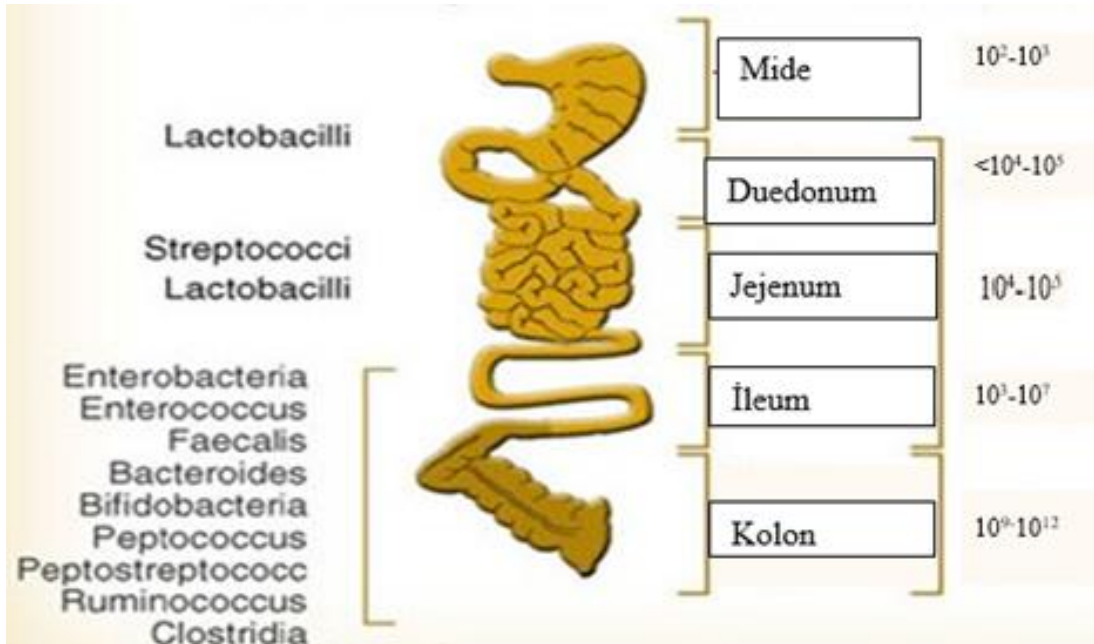
Bu alışma ile toplumumuzdaki obez ve sağlıklı bireylerin fekal bakteriyel konsantrasyonlarının karşılaştırılması ve mikrobiyom konsantrasyonlarına etki eden metabolik parametrelerin belirlenmesi amaçlandı. Farklı beslenme, fiziksel aktivite, hijyen vb. alışkanlıkları olan ülkemiz insanların mikrobiyal kompozisyonlarının fenotipindeki etkisine ışık tutulması planlandı. Herhangi bir standardizasyon yapılmamış olması ve bu konuda toplumumuza ait bir çalışma bulunmaması nedeniyle çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Bağırsak Mikrobiyota İçeriği

İnsan bağırsak mikrobiyotasının 16S rRNA gen analizleri sayesinde binden fazla türden oluştuğu belirlenmiştir. Sağlıklı bireylerde bunlar kabaca 6 bakteriyel küme olarak sınıflandırılabilirler (21-23).

- *Firmicutes* (*Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Anaerostipes*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* vb. gram pozitif cinsleri kapsamakta)
- *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* vb. gram negatif cinsleri kapsamakta)
- *Proteobacteria* (*Enterobacteriaceae* gibi gram negatif cinsleri kapsamakta)
- *Actinobacteria* (Gram pozitif *Bifidobacterium* cinsini kapsamakta)
- *Fusobacteria*
- *Verrucomicrobia* (*Akkermansia* vb. Cinsleri kapsamakta)



Şekil-3: Bağırsak mikrobiyotası (21-23)

Gastrointestinal sistemdeki mikrobiyal hücre içeriği mideden kolona gidildikçe önemli düzeyde artmaktadır. Bakteriyel içerik midede  $<10^3$ /ml, jejunumda  $10^4$ /ml, ileum distalinde  $10^7$ /ml ve kolonda  $10^{12}$ /ml civarındadır (Şekil-3) (21-23).

## **2.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Enerji Metabolizması**

### **2.2.1. Artmış Enerji Metabolizması**

Canlıların enerji metabolizması, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğinden ve metabolik parametrelerinden anlamlı düzeyde etkilenmektedir. Konvansiyonel olarak büyütülmüş (standart yetiştirme koşulları kullanılan ve herhangi bir mikrobiyolojik kontrol yapılmayan) farelerde, germ-free (bünyelerinde hiçbir mikroorganizma barındırmayan ve kanlarında bu mikroorganizmalara karşı oluşmuş antikor bulunmayan) farelere kıyasla daha yüksek seviyelerde serum glikoliz ve trikarboksilik asit metabolitleri (pirüvik asit, sitrik asit, fumarik asit, malik asit vb.) tespit edilmiştir (11). Bu durum, bağırsak bakterilerinin enerji metabolizmasında etkili olduklarını göstermektedir. Backhed ve ark.'ları, germ-free farelerin konvansiyonel büyütülmüş farelere göre, gıda alımlarının daha fazla olmasına rağmen belirgin düzeyde daha zayıf olduklarını belirlemiştir (5). Aynı zamanda, düşük yağ/yüksek polisakkarid içerikli diyet ile beslenen konvansiyonel farelerin çekal mikrobiyotasının germ-free farelere nakli sonrası, gıda alımları azaltılmış olmasına rağmen 14 gün içerisinde germ-free farelerin adipozitesinde %60'lık artış olduğu ve belirgin insülin direnci geliştiği gösterilmiştir. Öte yandan, konvansiyonel farelerden farklı olarak, yağ ve şekerden zengin batılı diyet ile beslenen germ-free farelerde obezite ve insülin direnci görülmemiştir (24). Bu çalışmalar diyet ile ilişkili obezite gelişiminde bağırsak mikrobiyotasının önemli rolünü kanıtlamaktadır.

### **2.2.2. Bakteriyel Fermentasyon**

Bağırsak mikrobiyotası konakçı tarafından sindirilemeyen ve bağırsakta emilemeyen diyetsel polisakkaridleri hidrolize ve fermente ederek bireyin enerji alımını fazlaştırmaktadır. Mikrobiyal fermentasyon sonucu konakçı tarafından absorbe edilebilen ve enerji kaynağı olarak kullanılabilen monosakkaritler ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)

meydana gelmektedir. Konvansiyonel büyütülmüş farelerde, germ-free farelere göre, intestinal sistemlerinden daha fazla monosakkarit emiliminin olduğu gösterilmiştir (5). Hidroliz ve fermentasyon sonucu oluşan KZYA'lar (özellikle asetat, bütirat ve propionat, daha az oranda ise süksinat ve format) kolon hücreleri tarafından daha kolay absorbe edilir. Bunlardan asetat önemli miktarda sistemik dolaşıma katılarak perifer dokulara taşınırken, bütirat büyük ölçüde kolonik epitel tarafından, propionat ise başlıca karaciğer tarafından değerlendirilmektedir. KZYA'lar gelişmiş ülkelerde yaşayan insanların bazal enerji ihtiyaçlarının yaklaşık olarak % 10'unu oluşturmaktadır. Bağırsak ve dolaşımdaki KZYA'ları yükselten diyet lifi takviyesinin insanlarda metabolik yararlar sağladığı bilinmektedir (25).

Bağırsakta fermentasyon ile oluşan KZYA'lar metanogenik arkae'lerin (Euryarchaeota grubu) metabolik etkileri için de gerekli olduğu düşünülmektedir. Arkae'ler hidrojen gazını elektron kaynağı olarak kullanarak karbondioksit miktarını düşürmektedir. İnsan bağırsağındaki metanogenlerin bakteriyel fermentasyonunun etkinliğini ve KZYA'ların üretimini arttırarak enerji kullanımı uyardıkları ve kilo alımına neden oldukları ileri sürülmektedir. Örneğin, germ-free farelerin *Methanobrevibacter smithii* (insan bağırsağındaki başlıca metanogenik Arkae türü) ve *Bacteroides thetaiotaomicron* (diyetsel polisakkaridleri fermente eden bir bakteri) ile kolonize edilmesi sonucunda bakteriyel fermentasyonun ve KZYA'ların üretiminin belirgin ölçüde arttığı ve bununda adipozite oranının artışına neden olduğu görülmüştür (26). Öte yandan, enerji kaynağı olmalarının yanısıra, karbonhidrat metabolizmasının son ürünleri olan KZYA'ların bağırsağın bariyer fonksiyonları, konakçı immünitesi ve epitelyal proliferasyon içinde gerekli olduğu görülmüştür (27). *Bifidobacteria* türlerinin yüksek konsantrasyonlarda asetat üretmesi nedeniyle *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* infeksiyonuna ve *Shiga toksin* salınımına karşı koruyucu rol oynadıkları bilinmektedir (28). Aynı zamanda, başlıca *Fecalibacterium prausnitzii*, *Eubacteriumrectale* ve *Roseburia* türleri tarafından üretilen bütirat virülans gen ekspresyonunu azaltarak, epitelyal antimikrobiyal peptid ekspresyonunu arttırarak ve kolonik epitele enerji kaynağı oluşturarak bakteriyel infeksiyonları engellemektedir (29).



### 2.2.3. KZYA'ların Metabolizması

#### 2.2.3.a. Bağırsak Peptidleri

Doğrudan enerji substratı olarak kullanılmalarına ilave olarak KZYA'lar (asetoasetik asit, bütirik asit), enerji alımının ve enerji metabolizmasının düzenleyicileri olarak da işlev görmektedir (30). Soğan, sarımsak, pırasa, hindiba, enginar gibi birçok sebze de bulunan ve fruktoz oligomeri olan inulin gibi sindirilemeyen ancak fermente edilebilen polisakkaridlerin bağırsak mikrobiyotasını etkileyerek KZYA'ların sentezini arttırdığı ve bunun konakçının doyumluk hissini arttırarak gıda alımını azalttığı gösterilmiştir (31-40). Azalmış gıda alımından iştahı azaltan glukagon benzeri peptid-1'in (GLP-1) ve peptidYY'nin (PYY) artışı (41, 42) ve hipotalamusu etkileyerek gıda alımını arttıran ghrelin sekresyonunun baskılanması sorumlu tutulmuştur (43). Probiyotikler, GLP-1 ve PYY'yi arttırarak ve ghrelin düzeylerini azaltarak doyumluk hissi oluşturmada ve enerji alımını düşürmektedirler. Örneğin, sıçan ve domuzlarda yapılan çalışmalarda KZYA'ların intrakolonik ve ileal infüzyonu ile PYY sekresyonunun belirgin düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (44, 45). Yine, obez kemirgenlere asetat (46, 47) ve bütirat (48) verilmesiyle iştahlarının baskılanmasından bağımsız olarak kilo alımının yavaşladığı görülmüştür. Bir başka çalışmada ise farelere asetat, bütirat ve propionat verilmesinin obezite ve insülin direnci gelişimine karşı koruyucu olduğu, ancak sadece bütirat ve propionatın bağırsak hormon sekresyonunu uyarak gıda alımını azalttığı görülmüştür. İnsanlardaki çalışmalar daha sınırlı olmasına rağmen propionatın insanlarda iştahı azalttığı tespit edilmiştir (49). Ayrıca, bütirat ve propionatın adipositlerden leptin ekspresyonunu da arttırdığı gözlemlenmiştir (50). Ayrıca, GLP-1 reseptör antagonistlerinin kullanımı sonucu, prebiyotiklerin obezite üzerindeki pozitif etkilerinin (bağırsak permeabilitesi, endotoksemi, inflamasyon, adipozite, insülin direncine etkileri vb.) azaldığı gösterilmiştir (34).

### **2.2.3.b. Serbest Yağ Asit Reseptör (SYAR) 2 ve 3**

KZYA'ların etkileri SYAR-2 (GPR-43) ve SYAR-3 (GPR-41) reseptörleri tarafından aktarılmaktadır. Her iki reseptör adipositlerde, distal ince bağırsağın ve kalın bağırsağın enteroendokrin hücrelerinden sentez edilmektedir. İn-vitro çalışmalarda asetatın başlıca SYAR-2'yi, bütiratın başlıca SYAR-3'ü ve propionatın her ikisini aktive ettiği görülmüştür (51, 52). KZYA'ların iştah ve enerji metabolizması üzerindeki yararlı etkileri bu reseptörler vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Bu reseptörlerin aktivasyonu adipositlerden leptin salgılanmasına (53), enteroendokrin hücrelerden ise PYY üretimine neden olmaktadır. Her iki hormon anoreksojenik (iştah azaltıcı) etkilidir. Ayrıca PYY bağırsak motilitesinde sağlamaktadır (54).

### **2.2.4. Toll Like Reseptör (TLR)- 5**

TLR'ler; bakteri, virüs ve mantarlar üzerindeki patojenik moleküler yapıları tanıyan reseptörlerdir (54). Bu mikrobiyal antijenlerin TLR'ler aracılığıyla tanınması, inflamatuvar ileti yollarını uyararak, sitokin ve diğer inflamatuvar belirteçlerin çoğalmasına neden olmakta ve antimikrobiyal immün yanıtı sağlamaktadır. Bağırsak epitelinin iç yüzeyinde bulunan bu reseptörler tarafından patojenlerin tanınması mukozal immün toleransın ve intestinal homeostazın devamlılığı için büyük önem teşkil etmektedir (55). TLR-5 spesifik olarak bakteriyel flagellini tanımaktadır. Ekstrasellüler flagellinin TLR-5 tarafından tanınması nükleer faktör (NF) aracılığıyla konakçı defans genlerinin transkripsiyonunu arttırmakta ve inflamasyon sırasında hücrenin yaşam süresini uzatmaktadır. Bu nedenle TLR-5 düzeyindeki azalmanın bağırsak mikrobiyota içeriğini değiştirebileceği, düşük düzeyde inflamasyona ve inflamasyon aracılığıyla metabolik bozukluklara neden olabileceği düşünülmektedir (56).

### **2.3. Obezite ile ilişkili inflamasyonda bağırsak mikrobiyotasının rolü**

Obezite; metabolik komplikasyonların ve olumsuz sağlık koşullarının patogenezinde rol oynadığı bir nevi inflamasyondur (57, 58). Bağırsağın mukozal yüzeyi ise, inflamasyona neden olabilen patojenik bakterilerin vücuda girdikleri başlıca bölgelerden biridir.

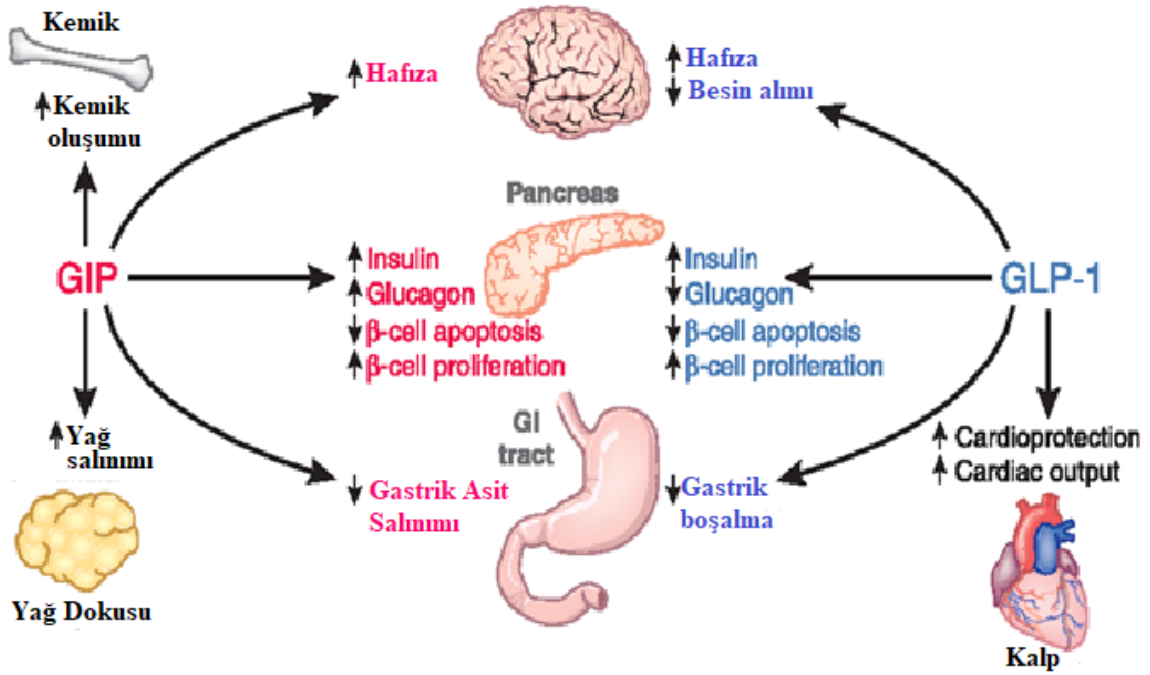
#### **2.3.1. Metabolik Endotoksemi**

Bağırsak bariyerinin bozulması çeşitli patolojik durumlarda gözlenmektedir. Bu patolojiler arasında yer alan obezite, insülin direnci ve diyabet bağırsak permeabilitesini arttırarak, intestinal lümeninden bağırsak bakterilerinin veya bileşenlerinin, kan dolaşımına ve dokulara anormal translokasyonuna yol açmaktadır. Bağırsağın bariyer aktivitesindeki değişikliklerin temel nedeni; plazmada Lipopolisakkarit (LPS) isimli gram-negatif bakterilerin hücre duvarı bileşenlerinin artışıdır. Plazmada LPS düzeyindeki artış metabolik endotoksemiye neden olarak; insülin direnci, obezite, T2D ile ilişkili olan düşük dereceli inflamasyonu ve metabolik bozuklukları tetiklemektedir. Bu metabolik inflamasyon; interlökin (IL) -1, IL-6 veya tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'yı da içeren sitokinlerin orta derecede üretimine katkıda bulunarak; sellüler insülin sinyalizasyonuna zarar verir. Sonuç olarak insülin direnci ve diyabete yol açar (59-66).

Obeziteye neden olan, bağırsak bariyer işlevindeki değişikliklerden sorumlu tutulan temel bileşenlerden biri intestinal mikrobiyotadır. Bunun yanı sıra, obeziteninde bağırsak mikrobiyota çeşitliliği ve bileşimi üzerine etkileri olduğu iyi bilinmektedir. Bağırsak bariyerindeki değişikliklerin metabolik endotokseminin başlangıcı olduğu, inflamasyon, obezite ve T2D ile ilişkili metabolik bozukluklar üzerine etkileri göz önüne alındığında, altta yatan mekanizmaların ve bağırsak permeabilitesindeki artışın tersine çevrilebilmesi son derece önemlidir (64, 66).

Diyabet ve obezite gelişiminde etkili olan, glukoz hemostazından sorumlu iki önemli bağırsak kökenli inkretin hormon; glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve gastrik inhibitör polipeptid (GIP). GLP-1 öğünlerden sonra, kan dolaşımına salınarak GLP-1R reseptörü aracılığıyla, glukoz bağımlı insülin salınımını ve pankreas beta hücrelerinde

insülin biyosentezini stimüle eder. İnsülinotropik faaliyetin dışında, GLP-1 glukagon salınımını baskılar, beta hücre kütleini artırır, gastrik boşalmayı inhibe eder ve gıda alımını azaltır. GIP ise gastrointestinal yolun fizyolojik hormonudur. Bundan dolayı GIP bazen “glukoz-bağımlı insülinotropik polipeptid” olarak da adlandırılır. GIP mide sekresyonunu ve motiliteyi inhibe ederken, insülin sekresyonunu ise stimüle etmektedir (67)(Şekil-4).



Şekil-4: GLP-1 ve GIP'in etki mekanizması (67)

Bir diğer bağırsak kökenli hormon Peptid YY (PYY) olup, 36 aminoasit olarak bağırsaktan saflaştırılmaktadır. PYY, yemeklere ve lümendeki yağ varlığına cevaben distal intestinal L hücreleri tarafından dolaşıma salınır. PYY3-36 (PYY-2), PYY'nin dolaşımdaki major formu olup, hipotalamik NPY-Y2 reseptörlerine bağlanır ve gıda alımını azaltır. Obez kişiler, obez olmayan kişilere göre test öğünü sonrası daha düşük PYY düzeyine sahiptir (67, 68).

Günümüze kadar, bağırsak bariyer fonksiyonlarına karıştığı ve enteroendokrin hücreler tarafından üretildiği bilinen ana enteroendokrin peptid GLP-2'dir. Bu peptid L

hücreleri tarafından üretilir; beslenme durumuna göre salınımı düzenlenir ve intestinal besin absorpsiyon kapasitesini artırır. GLP-2 farklı mekanizmalar yoluyla bağırsak bariyer işlevlerini sürdürmektedir. Bunlardan ilki, GLP-2'nin bağırsak üzerine trofik etkisinden dolayı epitel hücre proliferasyonunu başlatmasıdır. Ayrıca, GLP-2 epitel hücrelerini birbirine bağlayan proteinlerin yani sıkı bağlantı proteinlerinin (zonula occludens (ZO-1=occludin)) ekspresyonunu arttırmaktadır. Son olarak da GLP-2'nin Paneth hücreleri tarafından üretilen antimikrobiyal peptidlerin sentezlenmesini kontrol ederek doğal bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde yer aldığı kısa süre önce tespit edilmiştir (59, 66).

Bağırsak mikrobiyotasına ait KZYA, safra asiti ve biyoaktif lipidler gibi spesifik metabolitler, enteroendokrin L hücrelerinde üretilen GPR41, GPR43, GPR119 ve TGR5 vb. reseptörlerini aktive ederek, inkretin hormon sekresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunurlar. Uyarılmış enteroendokrin L hücreleri, insülin salınımını uyararak ve kan şekerini regüle eden GLP-1, GLP-2, GIP ve PYY gibi inkretin hormon peptidleri salgılar. Bu peptidler gastrointestinal sistem, beyin, yağ dokusu ve karaciğer gibi geniş bir organ ve doku hattını etkilemektedir. Sonuç olarak; bağırsak bariyeri fonksiyonu düzenlenmesi, glukoz ve enerji homeostazındaki iyileşmeler ile obezite ve T2D gibi metabolik bozukluklara karşı korunma sağlanmaktadır (59, 66).

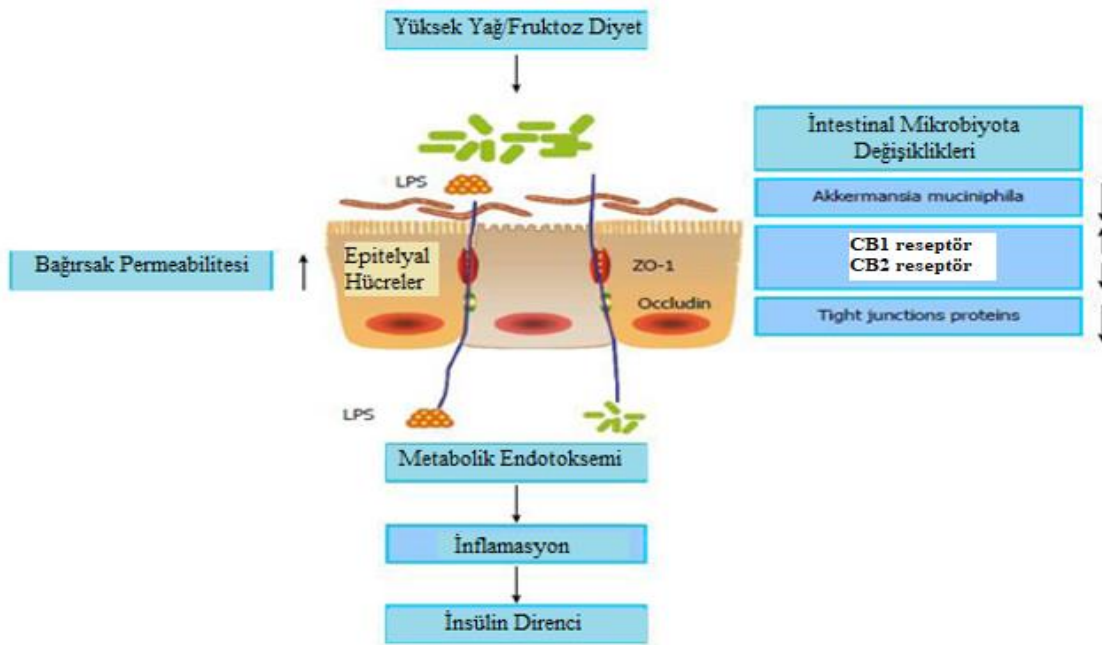
### **2.3.2. Metabolik Bakteriyemi**

Bakteriyel fragmanlara ilave olarak canlı bakterinin konakçı dokulara translokasyonu da obeziteye neden olmaktadır. Sadece bir haftalık yüksek yağ içerikli diyet ile beslenme sonrası 16S rRNA analizi ile total bakterilerin, gram-negatif bakterilerin ve Escherichia Coli DNA düzeylerinin bağırsak lümeninde, ileal mukozada, kan ve mezenterik adipoz dokuda önemli oranda artış gösterdiği görülmüştür (69). Yüksek yağ içerikli diyet gram-negatif bakterilerin intestinal mukozaya adheransını ve transmukozal translokasyonunu arttırmaktadır. Vilusların lümenal yüzeyinde ve mezenterik lenf nodlarındaki dendritik hücrelerde bakteri gözlenmesi immün aktivasyonu ve fagositozu desteklemektedir (69, 70).

### 2.3.3. Bağırsağın Bariyer Fonksiyonu

Metabolik endotokseminin ve bakteriyeminin altta yatan önemli bir risk faktörü bozulmuş bariyer fonksiyonudur. Obezitenin bağırsak mikrobiyotasında oluşturduğu değişiklikler ile bağırsak permeabilitesi arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Örneğin, yüksek yağ içerikli diyet sonrası gözlenen plazma LPS düzeylerindeki artışın bağırsak geçirgenliğindeki artış sonucu olduğu düşünülmektedir (Şekil-5) (71). Yine antibiyotik tedavisi sonrası bağırsak geçirgenliğinin azaldığı gözlenmiştir. Bağırsak geçirgenliğindeki bu değişiklikler tight-junction proteini olan ZO-1 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Örneğin, normal diyet ile beslenen fareler ile karşılaştırıldığında, yüksek yağ içerikli diyet ile beslenenlerde ZO-1 ekspresyonu daha düşük düzeylerde saptanmış, antibiyotik tedavisi sonrası normal düzeylere yükseldiği gözlenmiştir. Bu durum, bağırsak mikrobiyotasının intestinal epitel geçirgenliğinde etkili olduğunu ispatlamaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, *Akkermansia muciniphila*'nın da (*Verrucomicrobia* filumundan) münin tabakasının bütünlüğünü koruyarak ve inflamasyonu azaltarak obezite gelişiminden koruyabildiği gösterilmiştir (72). Ayrıca birçok çalışmada, bu bakteri ile vücut kilosu, yağ kitlesi ve obeziteyle ilişkili metabolik bozukluklar arasında karşıt ilişki bulunmuştur (73-76).



Şekil-5: Bağırsak mikrobiyotası ve diabet gelişimi (71)

### 2.3.3.a. Bağırsağın bariyer fonksiyonunu koruyan ve bakteriyel translokasyonu önleyen mekanizmalar

**GLP-2:** GLP-2, bağırsağın L hücreleri tarafından üretilen, Insulin-like Growth Factor (IGF-1) ve  $\beta$ -catenin yolları aracılığıyla intestinal büyümeyi uyan (kriptik hücre proliferasyonu, villüs büyümesi vb.) ve bariyer fonksiyonu düzenleyen bir proteindir. GLP-2 antagonistlerinin kullanımı sonrası obezite ile sonuçlanabilen bağırsak mikrobiyota değişiklikleri tespit edilmiştir (77-79).

**TLR-2:** TLR-2, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan, lipoteikoik asit, lipoprotein ve mikobakterilerin lipoarabinomannan'ları gibi mikrobiyal molekülleri tanıyan hücre membranı ilişkili reseptördür (80). TLR-2 tight-junction'ları koruyarak intestinal epitelin bariyer bütünlüğünü oluşturmaktadır (81). TLR-2'nin uyarılması TLR adaptör proteini olan myeloid differentiation primary-response protein 88 (MyD88) üzerinden anti-apoptotik P13K/AKT yolağı aktive etmektedir. Böylece, TLR-2 bağırsak epitel hücresinde stres ve hasarlanmanın artırdığı apoptozisi engellemektedir (82).

**MYD88:** Bağırsak homeostazın düzenlenmesinde MyD88'in büyük rolü vardır. MyD88, inflamasyon ve strese yanıt olarak TLR-2 aracılı tight-junction ve intestinal bariyer fonksiyonlarının korunması için gereklidir. Ayrıca, bağırsağa ait MyD88 bağımlı endojen antibakteriyel bileşiklerin artırılması sonucu intestinal bariyere patojen bakterilerin penetre olması engellenmektedir (83-85).

**NLRC2 (NOD2):** Fagositoza uğramış bakteriler, nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLR) gibi sitozolik reseptörler tarafından tanınmaktadır. Memelilerde yaklaşık 20 adet NLR proteini bulunmaktadır ve kabaca iki sınıfa ayrılırlar: NLRC'ler (önceleri NOD'lar olarak bilinirdi) ve NLRP'ler (önceleri NALP'lar olarak isimlendirilirdi) (86). Kesin bilgiler olmamasına rağmen, NLRC2 (NOD2)'lerin obeziteyle ilişkili disbiyozis ve metabolik endotoksemiden koruyucu olduğu düşünülmektedir. NLRC2 intestinal bariyerin önemli bir mikrobiyal sensörü olup bakteri hücre duvarlarında bir peptidoglikan komponent olan muramildipeptidi (MDP) tanımaktadır. NLRC2, Paneth hücrelerinden endojen antimikrobiyal ürünlerin üretimini arttırarak hücre sel bağışıklık aracılığıyla bağırsak mikrobiyotasını korumakta ve terminal ileumda fırsatçı patojenlerin kolonizasyonunda engellemektedir (86-88).

**ALP:** Lipitlerin sindiriminde rol oynayan intestinal alkalın fosfataz (ALP), aynı zamanda LPS'lerin detoksifikasyonunda (lipid kısmının defosforilasyonu aracılığıyla) da önemli işlevleri vardır (89). ALP ekspresyonunun bağırsak mikrobiyotası tarafından kontrol edildiği (90) ve obezitenin azalmış intestinal ALP aktivitesi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (91). Aynı zamanda, intestinal ALP aktivitesindeki artış metabolik endotoksemimin azalmasına neden olmuştur (92). Bu bulgular, yüksek yağ içerikli diyetin ve bağırsak mikrobiyotasının intestinal ALP düzeylerini azaltarak bağırsağın bariyer fonksiyonunu bozduğunu ve bunun sonucunda obeziteye neden olabileceğini göstermektedir.



### **2.3.3.b. Bakteriye translokasyonu önleyen konakçıya ait mekanizmalar**

**CD14/TLR4:** LPS'ler CD14/TLR4/MD2 sinyal kompleksini aktive ederek hücrede inflamatuvar yanıtları başlatmaktadır. LPS'lerin CD14/TLR4 aracılığıyla tanınması metabolik endotoksemi/bakteriyemi azaltmakta dolayısıyla bunların kilo aldırıcı etkilerine karşı korumaktadır (93).

**NLRC1(NOD1):** Sitozolik bir reseptör olan NLRC1 (önceleri NOD1 olarak bilinirdi) bakteri hücre duvarında d-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (meso-DAP) içeren peptidoglikanı tespit etmektedir. Bu peptidoglikanlar başlıca gram-negatif bakterilere spesifiktir. Böylece hem LPS (CD14/TLR4) hem de PGN (NLRC1) aracılığıyla bakterilere karşı anti-inflamatuvar yanıt oluşturulmaktadır.(83-85).

### **Endokannabinoid (eCB) Sistem**

Endokannabinoid (eCB) sistemi; endojen biyoaktif lipitler (anandamide (AEA) ve 2- arachidonoylglycerol (2-AG)), endokannabinoid reseptörler (CB1 ve CB2) ve onları parçalayan enzimler (fatty acid amide hydrolase [FAAH] ve monacylglycerol lipase [MGL]) tarafından oluşturulmaktadır (94). eCB sistem leptin aracılığıyla iştahı azaltmakta (95) ve bağırsak motilitesi gibi birçok farklı fizyolojik süreci kolaylaştırmaktadır (94). CB1 reseptörünün enerji metabolizmasının düzenlenmesindeki rolü belli olmasına rağmen, CB2 reseptörünün fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. CB1 ve CB2 reseptörleri gastrointestinal kanal boyunca değişik oranlarda, santral sinir sistemi, karaciğer, kas ve beyaz adipoz dokuda bulunmaktadır. Endokannabinoid lipitler bu reseptörlerin fizyolojik bağlanma yerleridir (96). Ancak, AEA'nın CB1'e afinitesi daha yüksektir. Bağırsak mikrobiyotası eCB sistem ile etkileşerek bağırsak permeabilitesini ve metabolik endotoksemi düzenlemektedir (97). Zayıf kontroller ile karşılaştırıldığında, obez bireylerde plazma 2-AG daha yüksek oranlarda olduğu görülmüştür. Ayrıca, obez bireylerin abdominal adipoz dokularındaki FAAH mRNA konsantrasyonları da normal kilolu kontrollere göre, daha düşük düzeylerde olduğu gösterilmiştir (98).

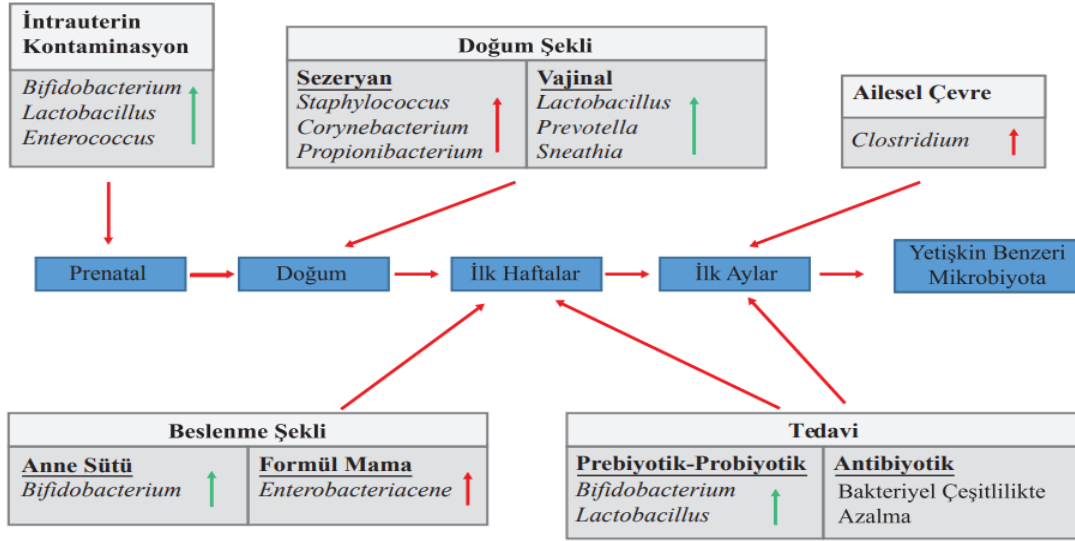
## **Metabolik endotoksemi ve adipogenezde eCB sistemin rolü**

LPS enjeksiyonu yapılan farelerde adipoz doku artışı görülmüştür. Hem metabolik endotoksemnin hem de bakteriyeminin obeziteye neden olduğu bilinmektedir (99). Bunun göstergesi adiposit boyutlarındaki artıştır (hipertrofik obezite). Boyutları artan bu adipositlerde adipogenez mekanizması bozulmaktadır (100).

Obez bireylerde eCB'lerin plazma ve adipoz dokudaki düzeyleri daha fazladır ve adipoz dokudaki CB1 reseptör sayısı artmıştır (101, 102). CB1 reseptörlerin bloke edilmesi obezite, insülin direnci ve ilişkili komplikasyonlardan fareleri korumaktadır (102-105). Prebiyotik verilen obez farelerin yağ kitlelerindeki azalma, metabolik belirteçlerindeki düzelme, adipoz dokulardaki CB1 reseptör mRNA ekspresyonunun ve AEA düzeylerinin azalması; adipojenik belirteçlerin azalmış ekspresyonu ile bağlantılı bulunmuştur. Ayrıca, obez farelerde CB1 reseptör blokajı prebiyotiklerde gözlenen benzer sonuçlar doğurmuştur. Bu bulgular, bağırsak mikrobiyotasının adipoz dokudaki eCB sistem üzerinden obeziteyi ve obeziteyle ilişkili komplikasyonları azalttığını göstermektedir (97).

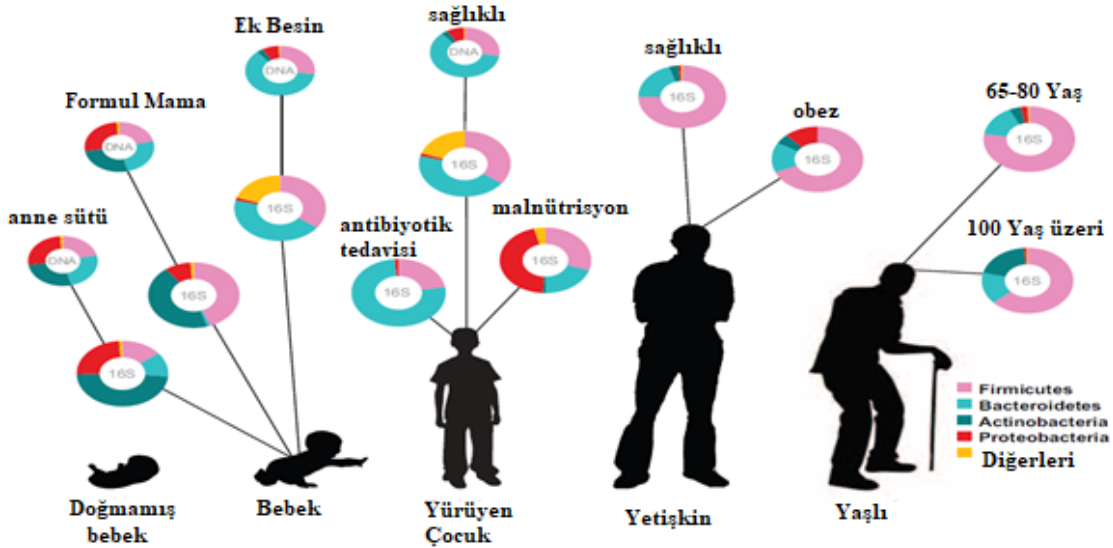
### **2.4. Mikrobiyota İçeriğini Etkileyen Faktörler**

**Maternal Kolonizasyon:** Doğum şekli steril barsaklara sahip olan yeni doğanın mikrobiyota içeriğini etkilemektedir. Doğum, eğer vajinal yolla gerçekleşirse yenidoğan mikrobiyotası annenin vajen ve kolon mikrobiyotası ile kolonize olmaya başlamaktadır. Doğum, eğer sezaryen ile gerçekleşirse yenidoğan mikrobiyotasının deri mikroorganizmalarına benzer şekilde kolonize olduğu bulunmuştur (106) (Şekil-5).



**Şekil-6:** İntestinal mikrobiyotanın oluşumu ve gelişimi (Şekilde yer alan yeşil oklar faydalı değişiklikleri, kırmızı oklar faydasız değişiklikleri belirtmektedir.) (112).

**Yaş:** Yapılan çalışmalar sonucunda erişkin dönemde mikrobiyota içeriğinin sabit kaldığı bulunmuştur. Yaşlanmayla birlikte intestinal mikrobiyota içeriğinin değiştiği ve mikrobiyal çeşitlilikte azalmalar olduğu görülmüştür. Yaş artışı ile birlikte intestinal mikrobiyotada bifidobakterilerin oranında azalma olduğu *Bacteroides* oranında artma olduğu gösterilmiştir (107) (Şekil-6).



**Şekil-7:** Mikrobiyotayı etkileyen faktörler (111).

**Diyet:** Beslenme şekli barsak mikrobiyota içeriği ve çeşitliliğine katkıda bulunan ana etmenlerden biridir. Karbonhidratlardan zengin beslenme, yüksek yağ içeren diyet tüketimi mikrobiyotada belirgin değişikliklere yol açmaktadır (108). Yüksek yağlı diyet tüketimi sonrasında barsak mikrobiyotasında gram-negatif türü bakteri oranı artmakta ve LPS üretim mekanizması tetiklenmektedir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı beslenme sonucunda farelerin barsaklarında LPS üretimi artarak vücut ağırlığı artışına, açlık hiperglisemisine ve hiperinsülinemiye yol açmaktadır (109).

Diyetin mikrobiyotaya etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada, Afrika kırsalındaki çocuklarla Avrupalı çocukların mikrobiyotaları karşılaştırılmıştır. Afrikalı çocuklarda bitkisel kaynaklı ve yüksek posalı diyet tüketiminin mikrobiyotayı korumada etkili olduğu görülmüştür. Avrupalı çocuklarda ise daha protein ve yağ ağırlıklı gıdalarla beslenmeleri sebebiyle, Bacteroidetes oranının arttığı, Firmicutes oranının azaldığı bulunmuştur. Afrikalı çocukların feçeslerinde, Avrupalı çocuklara kıyasla daha az oranda kısa zincirli yağ asidi olduğu gözlenmiştir (110).

## **2.5. Bağırsak Mikrobiyota İçeriğinde, Fonksiyonlarında ve Metabolizmasında Obezite ile İlişkili Meydana Gelen Değişiklikler**

### **2.5.1. Sınıf Düzeyinde Değişiklikler**

İntestinal mikrobiyotadaki bozulmalar ve fonksiyonel çeşitliliğin azalması ile birlikte disbiyoz (sağlıksız mikrobiyota) meydana gelmektedir (113). İntestinal mikrobiyotada disbiyoz oluştuğunda barsak geçirgenliğinde artma, kısa zincirli yağ asidi üretiminde değişim olmaktadır. Bu değişiklikler ise glikoz ve lipid metabolizmasında değişime, inflamasyona ve metabolik endotoksemiye neden olmakta ve sonuç olarak obeziteye yol açmaktadır (114).

Obeziteye ilişkin yapılan çalışmalardan elde edilen veriler sağlıklı bireylere göre obez bireylerin intestinal mikrobiyota içeriğinin değiştiğini göstermektedir. Obez bireylerin mikrobiyotasında Bacteroidetes ve Prevotella türünde artış olduğu, Firmicutes türünde ve Bifidobacterium miktarında azalma olduğu bulunmuştur (114). Obeziteye ilişkin yapılan

hayvan çalışmalarında da mikrobiyota içeriğinin değiştiği gösterilmektedir. Obez farelere yağ ve karbonhidrattan zengin diyet uygulandığında farelerin intestinal mikrobiyotasında Firmicutes türünde artış olduğu, Bacteroidetes türünde azalma olduğu saptanmıştır (115). Ley ve arkadaşlarının (116), obez ve ağırlığı normal bireylerin mikrobiyota içeriklerini karşılaştıran araştırmalarında; obez bireylerin mikrobiyotasındaki Firmicutes oranının daha yüksek, Bacteroidetes oranının daha düşük olduğu saptanmıştır. Turnbaugh ve arkadaşlarının (117) yapmış olduğu çalışmada, sağlıklı bireylere göre obez bireylerde Bacteroidetes oranında azalma olduğu, Actinobacteria oranında artış olduğu ancak Firmicutes oranında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Armougom ve arkadaşları (118) ise, sağlıklı bireylere göre obez bireylerde Firmicutes türünden *Lactobacillus* cinsinde artış ve Bacteroidetes türünde azalma tespit etmişlerdir.

Mikrobiyotada bulunan Actinobacteria türünden *Bifidobacterium* cinsi pek çok çalışmada obezite ile ilişkili bulunmuştur. Örneğin; Million ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada sağlıklı bireylere göre obez bireylerde; Bacteroidetes oranının benzer olduğu, Firmicutes oranının arttığı ve *Bifidobacterium* oranının ise azaldığı saptanmıştır (119).

### **2.5.2. Fırsatçı Patojenler ve KZYA üreticileri**

Tür düzeyindeki değişikliklerden farklı olarak, mikrobiyota içeriğinde sınıf ve daha aşağı düzeylerde oluşan değişiklikler de obezite gelişimi ile bağlantılıdır. Fırsatçı patojen düzeylerindeki artma veya KZYA üreten organizmalardaki azalma obeziteye neden olabilmektedir. Örneğin, *Staphylococcus aureus* kilolu/obez bayanlarda ve çocukluk döneminde kilo alan infantlarda daha yaygın bulunmaktadır (120, 125). Gram-negatif *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri (*Escherichia Coli* vb.), normal kilolu gebeler ile karşılaştırıldığında, kilolu gebelerde daha yüksek konsantrasyonlarda saptanmış ve gebelik süresince aşırı kilo alanlarda, almayanlara kıyasla daha yüksek *Escherichia Coli* konsantrasyonları gösterilmiştir (123). Yine, morbid obez gönüllülerde (VKİ=58,8 kg/m<sup>2</sup>) birçok patojen içeren *Enterobacteriaceae* ailesinde, bağırsak bakterilerinin %35'ine varan oranlarda, belirgin çoğalma tespit edilmiştir (126). Öte yandan, Zhang ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek yağ içerikli diyet ile *Mollicutes*'lerin aynı oranda

değişmediği; bu gruptaki üyelerin bazılarında artış, bazılarında ise azalma olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, *Desulfovibrionaceae* ailesinin endotoksin üreten bakterileri (*proteobacteria*) de artmış olarak tespit edilmiştir (123). Yine, *Halomonas* ve *Sphingomonas* türlerinin genetik obez sıçanlarda daha yüksek oranlarda olduğu raporlanmıştır (129).

Fırsatçı patojenlerden farklı olarak, KZYA üreten türler obez bireylerde daha düşük düzeylerde tespit edilmiştir. Çekal *Bifidobacterium* hem genetik obezitede hem de yüksek yağ içerikli diyet sonrası gelişen obezitede azalmış düzeylerde olduğu görülmüştür (124). Kilolu çocuklarda, yetişkinlerde ve gebelik süresince fazla kilo alanlarda *Bifidobacterium* sayısının azaldığı gözlenmiştir (120, 125, 127). *Faecalibacterium prausnitzii*, absorbe edilemeyen karbonhidratlardan bütirat ve NFκB aktivasyonunu bloke eden anti-inflamatuvar metabolitler üreterek (128) konakçı metabolizmasında faydalı etkileri olan bir *Firmicute*'dur. Bağırsak *Faecalibacterium prausnitzii* düzeyleri, zayıf sağlıklı kontrollere göre, diyabetik morbid obez bireylerde belirgin düzeyde daha düşük saptanmış ve inflamatuvar sitokinlerin plazma düzeyleri ile *Faecalibacterium prausnitzii* arasında negatif ilişki tespit edilmiştir (122). Ancak Balamurugan ve arkadaşlarının, obez hintli çocuklarda yapmış oldukları çalışmada *Faecalibacterium prausnitzii* düzeyleri, zayıf kontrollere göre, daha yüksek oranlarda hesaplanmıştır (121).

### **2.5.3. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler obezitenin sebebi mi yoksa sonucu mu?**

Obeziteyle ilişkili bağırsak mikrobiyota içeriğinde gözlenen değişikliklerin kilo alımından kaynaklanmadığı, sadece değişen diyet ve/veya metabolizmanın bir sonucu olduğu ile ilgili tartışma mevcuttur (130). Resistin-like molecule β (RELMβ), mukozal immün yanıtın bir parçası olarak fonksiyon gösteren, goblet hücrelerine spesifik olan ve sisteinden zengin bir peptittir (131). RELMβ knock-out farelerin yüksek yağ içerikli diyet verilmesine rağmen zayıf oldukları tespit edilmiştir. Yüksek yağ içerikli diyet sonrası RELMβ knock-out farelerin total vücut ağırlıkları 32g, vücut yağ ağırlıkları 6 g saptanırken; RELMβ geni bulunan farelerde kilo artışı görülmüş olup, total vücut ağırlıkları

45g ve vücut yağ ağırlıkları 11 gr olarak tespit edilmiştir. Ancak ilginçtir ki yüksek yağ içerikli diyet hem RELM $\beta$  bulunan hem de RELM $\beta$  knock-out farelerin bağırsak bakteriyel içeriğinde benzer değişiklikler meydana getirmiştir. Her iki grupta *Bacteroidetes* oranları %55'ten %3'e düşmüş, *Firmicutes* oranları %10'dan %30'a, *Proteobacteria* oranları %29'dan %45'e ve *Actinobacteria* oranları %3'ten %8'e yükselmiştir. Bu gözlem, diyetin etkisinin obez fenotip oluşturmaktan ziyade, bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriyel içeriğin şekillenmesinde daha belirgin rolü olduğunu akla getirmektedir (132). Değişmiş bağırsak mikrobiyotasının ve inflamasyonun diyetle ilişkili obeziteye katkısını değerlendirmek amacıyla La Serre ve ark.'ları, Sprague–Dawley sıçanlarından üç farklı grup oluşturarak bir araştırma planlamışlardır. Bu çalışmada (1) yüksek yağ içerikli diyet verildiğinde obezite geliştirmeye yatkın fareler, (2) yüksek yağ içerikli diyet verildiğinde obezite geliştirmeye dirençli fareler ve (3) düşük yağ içerikli diyet ile beslenen fareler yer almışlardır ve intestinal inflamasyon ile çekal mikrobiyal içerik karşılaştırılmıştır. Diğer gruplara kıyasla, yüksek yağ içerikli diyet verildiğinde obezite geliştirmeye yatkın farelerde artmış ileal epitelial inflamasyon, bağırsak TLR4 aktivasyonu, artmış bağırsak permeabilitesi ve plazma LPS düzeyleri ile azalmış intestinal ALP aktivitesi saptamıştır. Yüksek yağ içerikli diyet ile total çekal bakteriyel konsantrasyon azalmış, obezite geliştirmeye yatkın ve dirençli farelerde ise *Bacteroidales* ve *Clostridiales* rölatif oranları artmıştır. Bu durum, çekal bakterilerdeki bu değişikliklerin obeziteyle ilişkili olmadığını, yüksek yağ içerikli diyetten kaynaklandığını akla getirmektedir (133).

Yüksek yağ içerikli diyet verildiğinde obezite geliştirmeye yatkın farelerde sadece *Enterobacteriales* düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Bu durum ise, LPS üreten bu bakteriyel sınıf ile obezite gelişimi arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu veriler ışığında araştırmacılar, yüksek yağ içerikli diyetin, bağırsak lümeninde mikrobiyota kaynaklı LPS düzeylerini ve inflamasyonu arttırarak obeziteye neden olduğunu belirtmişlerdir(133).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar bu verileri doğrulamakta ve bu hipotezin insanlarda da geçerli olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda, morbid obez bireylerin bağırsağından izole edilen *Enterobacter* türlerinin yüksek yağ içerikli diyet ile beslenen

germ-free farelerde (yüksek yağ içerikli diyetle dirençli olan farelerde) sistemik endotoksemiye arttırdığı, inflamasyonu, obeziteyi ve insülin direncini şiddetlendirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bağırsakta endotoksin üreten artmış bakteri düzeylerinin obezite ve insülin direncinin bir sonucu olmaktan çok, obezite ve insülin direncine neden olduğunu akla getirmektedir (126).

Obez bireylerde bağırsak mikrobiyotası ile insülin direnci arasında da sağlam ilişki saptanmıştır. Bu durum, sağlıklı bireylerden obez ve insülin direnci olan bireylere bağırsak mikrobiyota transplantasyonu ile gösterilmiştir. Yapılan çalışmada, obez ve insülin direnci olan erkek yetişkinler, endojen mikrobiyotanın bağırsak lavajı ile temizlenmesi sonrası, allojenik (yaş ve cinsiyetleri aynı zayıf sağlıklı bireylerden fekal mikrobiyota infüzyonu yapılan) ve otolog (kendi bağırsak mikrobiyotası infüze edilen) infüzyon olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır. Allojenik infüzyon yapılanlarda bütirat üreten *Roseburia İntestinalis*'in de aralarında olduğu 16 fekal bakteriyel popülasyonunu artmış ve bütirat üreten *Eubacterium halli* de dahil olmak üzere 7 intestinal mukozal bakteriyel grubun yoğunluğunu etkilemiştir. Ayrıca, otolog infüzyon yapılanlarda insülin direnci değişmemiş olmasına rağmen, allojenik infüzyon uygulanan bireylerde periferik insülin sensitivitesi belirgin oranda artmış ve hepatik insülin duyarlılığının iyileşme eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (134).

Sonuç olarak, obezite bağırsak mikrobiyotasının mikrobiyal içeriğini değiştirmekte ve bu mikrobiyal değişiklikler obezite ve insülin direncinin etiolojisinde rol oynamaktadır. Ancak, etiolojide rol oynayan bağırsak bakterilerinin spesifik paternleri olması ve farklı çalışmalardaki tutarsız ve çelişkili sonuçları nedeniyle bir belirteç veya tedavi hedefi olarak kullanımları ile ilgili bir görüş şu an itibarıyla bulunmamaktadır. Obezitede spesifik bakteri türlerinin kesin rollerini tanımlamak amacıyla ilave klinik ve prelinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## 2.6. Mikrobiyotayı Etkileyen Tedavi Ajanları

### 2.6.1. Probiyotikler

“Probiyotik” terimi “hayat için” anlamındadır. Amerika’nın Gıda ve Tarım Organizasyon ve Dünya Sağlık Örgütü probiyotikleri yeterli miktarda verildiklerinde konakçıda faydalı etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak ifade edilmiştir. Özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait probiyotik *strain*’lerin, bağırsak mukozasına patojen adezyonunu azaltarak, mikrobiyal yapıyı stabilize ederek, mukozal bütünlüğü ve bariyer fonksiyonları düzelterek; obeziteyi, inflamasyonu ve ilişkili komplikasyonları iyileştirdikleri tespit edilmiştir (135-137). Daha önce de belirttiğimiz gibi, mukoza bütünlüğündeki bu iyileşmeler bakteriyel fermentasyon sonucu oluşan KZYA ürünlerinin etkisine bağlıdır. Ancak, *Lactobacilli*’lerin epitelyal hücreler ve bağırsak kontraktilesini regüle eden enterik sinir sistemi üzerindeki direkt faydalı etkileri de gösterilmiştir (138).

Kemirgen denekler, probiyotik tedavisi olarak kullanılabilen insan bağırsak bakterilerin tanımlanmasında, güçlü in-vivo yapılar oluşturmuştur. Diyet ile obez hale getirilen farelere 8 hafta süreyle *Lactobacillus rhamnosus* PL60 verilmesiyle, gıda kısıtlaması yapılmadığı halde, vücut ağırlığında ve beyaz adipoz dokuda (epididimal ve perirenal) azalma görülmüştür (139).

Yin ve ark.’ları, sağlıklı insanların feçeslerinden izole edilen 4 farklı *Bifidobacterium* strain’in; yüksek yağ içerikli diyet ile obez hale getirilen farelerdeki etkilerine bakmışlardır. Strain’lerden biri kilo artışına, diğeri kilo kaybına neden olmuş ve iki tanesinin vücut ağırlığında önemli bir etkisi gösterilmemiştir. Bu bulgular, *Bifidobacterium*’un anti-obezitojenik etkilerinin strain spesifik olduğunu akla getirmektedir. Bununla birlikte, her 4 strain de serum ve karaciğer trigliserid düzeylerini düşürmüştü ve karaciğerde lipit birikimini azaltmışlardır (140).

Yakın tarihli bir çalışmada, sağlıklı Korelilerin bağırsağından izole edilen 3 *Bifidobacterium* türü kombinasyonunun (*Bifidobacterium pseudocatenulatum* SPM 1204,

Bifidobacterium longum SPM 1205 ve Bifidobacterium longum SPM 1207) yüksek yağ içerikli diyet ile beslenen obez fareler üzerindeki etkileri bakılmıştır. Yedi hafta sonra, yüksek yağ içerikli diyet ile birlikte insan bifidobakteriyel strain'leri verilen farelerin, sadece yüksek yağ içerikli diyet ile beslenenlere kıyasla, vücut ağırlıkları ve yağ birikimlerinin azaldığı, lipit profillerinin ve glukoz-insülin homeostazlarının düzeldiği tespit edilmiştir. Ancak, bu iyileşmelere neden olan mekanizmalar bilinmemektedir (141). Bu çalışmalar, sağlıklı insan bağırsağından alınan probiyotik strain'lerin; kilo kontrolünde ve metabolik tedavilerde etkili olabileceğini göstermektedir. Zaten, probiyotikler (Yin ve ark.'larının çalıştıkları 4 strain'den biri de dahil olmak üzere) çiftlik hayvanlarında kilo alımı amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum ise; günümüzdeki obezite pandemisinin, probiyotik bakterileri içeren gıdaların insanlar tarafından fazla tüketilmiş olması ile ilişkili olabileceğini akla getirmektedir (142).

Bu konuyla ilgili insan çalışmaları sınırlı olmasına rağmen probiyotiklerin kilo üzerine faydalı etkileri olduğu bilinmektedir. Çift-kör, randomize, plasebo kontrollü 43 kilolu (VKİ =24,2–30,7 kg/m<sup>2</sup>) gönüllü üzerinde yürütülen bir çalışmada; 12 hafta süreyle *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (LG2055) strain'i içeren 200 g/gün fermente süt verilen bireylerin, tek başına fermente süt verilenlere kıyasla, abdominal visseral ve subkutan yağ dokularında, vücut kilolarında ve bel çevrelerinde belirgin azalma olduğu görülmüştür (143).

Beklenen doğum tarihinin 4 hafta öncesinden postpartum 6. aya kadar *Lactobacillus rhamnosus strain* verilen annelerin, 10 yıllık takipleri boyunca, çocuklarında aşırı kilo alımı engellenmiştir (144).

Son zamanlarda yapılan iki farklı kohort çalışmasında, doğumdan 2 ay öncesinden 2 ay sonrasına kadar probiyotik ve plasebo verilen annelerin çocukları ile 1-4 aylıkken probiyotik ve plasebo içeren hazır gıdalar ile beslenen yeni doğanların fekal örneklerinde mikrobiyota içerikleri incelenmiştir (145). Probiyotik olarak *Lactobacillus rhamnosus* LPR, *Lactobacillus paracasei* ST11 ve *Bifidobacterium longum* BL999 kullanılmıştır. Anneleri *Lactobacillus rhamnosus* LPR ve *Bifidobacterium longum* BL999 kombinasyonu ile tedavi

edilen grupta; *Lactobacillus*–*Enterococcus* düzeylerinin arttığı, *Bifidobacterium* konsantrasyonlarının azaldığı tespit edilmiştir. Buna karşılık, probiyotik verilen infant grubunda bu etkiler görülmemiştir. Araştırmacılar, beslenme tipine ve bakterilerin erken dönemdeki kolonizasyonuna bağlı olarak probiyotik tedavisinin bağırsak mikrobiyota içeriğinde farklı etkileri olduğundan bahsetmişlerdir. Şüphesiz insanlar tarafından tüketilen ilk probiyotik içeren gıda anne sütüdür. İki farklı çalışmada, anne sütü örneklerinde ve yeni doğanların feçeslerinde *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Enterococcus* türlerine ait benzer DNA amplifikasyonları gözlenmiştir (146, 147). Bu durum, bu bakterilerin anne sütünden infantlara vertikal geçişinin olduğu fikrini güçlendirmektedir.

Ayrıca probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasına etkileri, bakterilerin kolonositlere adezyonu, asidik pH'ya rezistansları ve safra tuzlarına olan toleranslarıyla bağımlı bulunmuştur. Örneğin, *L. reuteri* DSM 12246 kolon hücrelerine çok iyi adezyon göstermektedir. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* CHCC2329 grubunda ise pH 2.5'te yaşam belirtisi gözlenmemiştir (148).

### **2.6.2. Prebiyotikler**

Gıdaların emilmeyen ancak konakçıya faydaları olan, bazı bağırsak bakterilerinin (özellikle *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*) çoğalmasını olumlu etkileyen ve KZYA üretimini arttıran yiyecek bileşenleridir (149). Prebiyotikler sindirilmeden kolondaki bakterilerce fermente olmaktadır. Fermentasyon sonucu kolon hücreleri için gerekli enerji ve KZYA'lar oluşur. Daha önce de bahsedildiği gibi, kolonda bulunan bu bakterilerin anti-inflamatuvar etkileri bulunmakta ve konsantrasyonları obezitede azalmaktadır. Sağlıklı insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, prebiyotik tüketimi ile açlığın azaldığı ve doyumluk hissinin arttığı gösterilmiştir (150). Sindirim sisteminin bu mekanizması kısmen KZYA'ların neden olduğu peptid yapıdaki bağırsak sekresyonlarından kaynaklanmaktadır. Prebiyotikler, ayrıca *Bifidobacterium* popülasyonunu arttırarak, intestinal bariyer fonksiyonlarını güçlü kılmaktadır. Örneğin, yüksek yağ içerikli diyet ile beslenen farelere oligofruktoz verilmesinin ardından *Bifidobacterium* oranlarının arttığı ve endotokseminin azaldığı tespit edilmiştir (151). Prebiyotik tedavisi sonrası, sağlıklı bireylerdeki mikrobiyal içeriğinin % 5'ini oluşturan *Akkermansia muciniphila* düzeylerinin yaklaşık olarak yüz kat

arttığı rapor edilmiştir (152). İnsan ve hayvan çalışmalarında, Akkermansia muciniphila düzeylerinin vücut ağırlığı, diyabet (153) ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları (154) ile negatif yönde korele olduğu belirtilmiştir. Ancak, bu bakterinin bağırsak bariyer fonksiyonları ve T2D gelişimine etkisinin ortaya konması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Prebiyotiklerin insanlardaki obezite kontrolü ile ilişkisi sadece birkaç küçük çalışma ile gösterilmiştir. Oligofruktozdan zengin bir bileşik olan Andean tuber Yacon (*Polymniasanchifolia*) şurubu verilen premenapozal obez kadınlarda (VKİ>30 kg/m<sup>2</sup>), plasebo verilenlere kıyasla, artmış doyumluk hissi oluşmuş ve vücut ağırlıkları, bel çevreleri ve VKİ'lerinin belirgin düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde, fruktandan zengin şurup verilen katılımcılarda ise çalışma boyunca ortalama 15 kilo kayıp gözlenmiş ve açlık insülin düzeylerinde yaklaşık olarak %50'lik, LDL kolesterol düzeylerinde ise %30'luk düşüşler tespit edilmiştir (155). Yakın tarihli randomize, çift-kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, 48 kilolu veya obez bireye (VKİ >25 kg/m<sup>2</sup>) 12 hafta süreyle 21g prebiyotik (oligofruktoz) ve plasebo (maltodekstrin) verilmiş. Gruplar rastgele seçilmiştir. Plaseboyla karşılaştırıldığında, prebiyotik kullanımı vücut kilosunu 1±0,4 kg azaltmış, ghrelin sekresyonunu baskılamış, dolaşımdaki PYY düzeylerini arttırmış, kalori alımını azaltmış, plazma glukoz ve insülin konsantrasyonlarını düşürmüştür (150). Lecerf ve ark.'ları tarafından yapılan başka bir çalışmada, sağlıklı bireylere tek başına xy-oligosaccharide (XOS) verilmesiyle prebiyotiklerin faydalı etkileri gösterilmiş olmasına rağmen, inulin ile birlikte XOS verilmesinin plazma LPS düzeylerini düşürdüğü ve LPS'lerin pro-inflamatuvar etkilerini azalttığı gösterilmiştir (156).

### **2.6.3. Antibiyotikler**

Çalışmaların bir çoğunda oral ve intravenöz antibiyotiklerin sindirim sistemindeki bakteriyel yükü azalttıkları rapor edilmiş olmasına rağmen (157, 158), bazılarında sadece mikrobiyota içeriğini değiştirdikleri görülmüştür (159). Örneğin; metronidazol, sefoperazon ve vankomisin, amoksisilinden farklı olarak, toplam bakteriyel yükte önemli bir azalma yapmaksızın bakteriyel oranlarda değişikliklere yol açmıştır (160).

Antibiyotiklerin etkileri türlere spesifik olabilir. Hayvan çalışmalarında özellikle *Lactobacillus*'un büyüme uyarıcı antibiyotiklerden etkilendiği ve genellikle miktarının azaldığı gösterilmiştir (161). Aynı şekilde, özellikle *Proteobacteria* (*Salmonella* vb.) gibi bazı bakteri türlerinin düzeyleri ise büyüme uyarıcı antibiyotikler tarafından azaltılmaktadır (162). Ayrıca, kısa süreli antibiyotik tedavisi ile hızlı iyileşme tanımlanmış olmasına rağmen (160), kinolonlar veya sefoperazon gibi bazı antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ile bağırsak mikrobiyotasında kalıcı etkiler tespit edilmiştir (163, 164).

Moore ve ark.'ları 1946 yılında, yeterli miktarda folik asit ile beslenen civcivlere sülfonamid verilmesiyle 2 katlık bir kilo artışı olduğu ve koliformların azalıp, laktobasillerin artarak toplam bakteriyel konsantrasyonda artış meydana geldiğini saptamışlardır (165). Stokstad ve ark.'ları ise hem *Streptomyces aureofaciens*'in hem de aeromisin (tetrasiklin türevi) kilo alımı ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir (166). Hayvanlarda kilo alımı amacıyla 60 yıldan uzun süredir kullanılan antibiyotikler arasında başlıca tetrasiklinler, glukopeptid yapılı antibiyotikler, makrolidler ve penisilinler yer almaktadır. Bu amaçla kullanımda en optimal etkinlik domuzlarda gözlenmiş olup (167), ABD'de halen yaygın olarak tercih edilmektedir (168).

Yine aynı amaçlarla 1950'lerden itibaren tarımda da kullanılmaya başlanmış ve benzer büyüme uyarıcı etkiler insanlarda da gözlenmiştir (169-171), ancak bu etkiler son zamanlara kadar göz ardı edilmiştir (172, 173). Trasande ve ark.'ları, insanlarda hayatın ilk 6 ayında antibiyotiklere maruziyetin vücut kitlesinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Daha geç dönemlerdeki maruziyet (6-14 aylar ve 15-23 aylar) ise kilo alımı ile ilişkili bulunmamıştır. Erken maruziyetin (<6 ay) etkileri bireysel düzeyde olmasına rağmen, toplum sağlığı açısından önemli sonuçlar doğurabilir (174). Hayvan çalışmalarının ardından, preterm bebeklerde aeromisin etkisi araştırılmış ve 10 günlük kullanım sonrası preterm infantlarda kilo alımını uyardığı tespit edilmiştir (171). Ek olarak, kötü beslenen veya kırsal kesimlerde yaşayan çocuklarda, Amerikan donanmasının genç erlerinde, kistik fibrozisli veya pankreatik hastalığı olan bireylerde tetrasiklin kullanımının benzer etkilere neden olduğu raporlanmıştır (175). Toplum kaynaklı randomize, çift-kör, plasebo kontrollü başka bir çalışmada, pnömoni profilaksisi ve kızamık enfeksiyonu sonrası diğer

komplasyonları önlemek amacıyla verilen sülfonamidlerin ve kotrimoksazolün de kilo alımına neden olduğu gösterilmiştir (176).

Ancak, bu çalışmalardan kilo alımının antibiyotiklerin bakteriyel infeksiyonları tedavi etmeleri sonucu mu gerçekleştiği, yoksa bağırsak mikrobiyotasında değişikliğe neden olduklarından dolayı mı gözlendiği yorumunu yapmak çok zordur. Muhtemelen her iki mekanizmanın da kilo alımına katkısının olduğu öngörülmektedir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Etik Kurul İzni

Bu çalışma öncesinde, Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'ndan 19.09.2018 tarih ve 2018-09/09 Karar No'su ile Etik Kurul onayı (Ek-1) alındı.

Ayrıca çalışmamız Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından T-829 proje numarası ile desteklendi.

#### 3.2.Örneklemin Belirlenmesi ve Çalışmanın Akışı

Bu çalışma Eylül-Aralık 2018 tarihleri arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Aile Hekimliği polikliniğine başvuran 35-65 yaş arasındaki obez bireylerde yürütüldü. Çalışmaya, maliyetinin yüksekliği göz önüne alınarak, 14 obez ve 12 sağlıklı gönüllü toplam 26 bireyin dahil edilmesine karar verildi. Obezite tanısı vücut kitle indeksine göre tanımlandı. Vücut kitle indeksi (VKİ), kilogram olarak vücut ağırlığının metrekaare olarak boya bölünmesi ile hesaplandı. VKİ >30 kg/m<sup>2</sup> olan bireyler obezite grubunu oluşturdu. Kontrol grubunu oluşturan bireylerde VKİ'nin 20-25 kg/m<sup>2</sup> arasında olmasına dikkat edildi.

Obezite dışında başka bir kronik hastalığın varlığı (diyabet, hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, hipo/hipertiroidi, koroner arter hastalığı, insülin direncine neden olan polikistik over sendromu, akantozis nigrikans, lipotrofi/lipodistrofi sendromları vb. durumlar), alkol ve sigara kullanımı dışlama kriterleri olarak kullanıldı. Ayrıca çalışma amaçlı alınan dışkı örneklerinden önce son 3 ay içerisinde ilaç (antimikrobiyal, antipsikotik, probiyotik, prebiyotik vb.) kullanılmamış olmasına dikkat edildi. Yaşı 35'den küçük, 65'ten büyük olanlar, gebe veya emziren bayanlar, 3 aydan daha kısa süreli cerrahi girişim öyküsü bulunanlar, eşlik eden herhangi bir hastalığı olanlar çalışmaya alınmadı. Araştırmanın amacı ve yapılacak işlemler hakkında ayrıntılı bilgi verilerek, çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden gönüllü olarak katıldıklarına dair imzalı onamları alındı.

Hem hasta grubunun hem kontrol grubunun bağırsak florasının birçoğunu temsil eden bakteriler gaita örneğinden çalışıldı. Bu bakterilerin düzeylerini saptamak amacıyla

DNA izolasyonu yapılacak örnekler -80 °C’de çalışmanın yapılacağı zamana kadar bekletildi. DNA izolasyonu işlemleri için numuneler mikrosantrifüj tüp içerisine alınarak yeterli hacimde RNA Later (Ambion, Inc.) eklendi. Daha sonra DNA izolasyonu işlemlerine geçildi. Metagenomik DNA izolasyonu işlemi Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda yapılmış olup daha sonrasında gerçekleştirilen 16S rRNA sekans analizi işlemleri için numuneler yurt dışına gönderildi. Biyolojik materyal transferi ihaleye çıkılarak firmalar arasında seçim yapılması sonrasında gerçekleştirildi.

Obez hastalar ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin antropometrik ve klinik parametreleri Tablo-1’de gösterilmiştir.

**Tablo-1:** Obez hastaların ve Kontrol grubunun antropometrik ve klinik parametreleri

ID	Disease	Cinsiyet	Yaş	Boy	Kilo	Bel Çevresi	BMI	Beslenme	Probiyotik Besin Alımı	Eğitim Durumu	Tuz Kullanımı	Spor
OB1	Obezite	K	50	149	70	80	31,5	Dengeli	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OB2	Obezite	K	48	151	92	107	40	Karbonhidrat	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OB3	Obezite	K	38	160	85	90	33	Dengeli	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OB4	Obezite	E	49	182	103	112	31	Protein	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OB5	Obezite	E	55	174	88	110	30	Dengeli	Sık sık	Lisans	Evet	Hiç
OB6	Obezite	K	55	164	92	110	34	Dengeli	Sık sık	İlkokul	Evet	Hiç
OB7	Obezite	K	48	157	98	112	39,8	Protein	Bazen	Lisans	Evet	Hiç
OB8	Obezite	E	35	178	124	120	42	Dengeli	Bazen	Lisans	Bazen	Hiç
OB9	Obezite	K	46	165	83	106	32	Dengeli	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OB10	Obezite	E	51	170	110	130	38	Karbonhidrat	Bazen	Lise	Evet	Hiç
OB11	Obezite	E	39	176	105	114	36	Protein	Bazen	Lisans	Evet	Hiç
OB12	Obezite	E	35	174	132	125	45	Dengeli	Bazen	Lisans	Evet	Hiç
OB13	Obezite	E	35	169	98	114	34	Dengeli	Bazen	Lisans	Evet	Hiç
OB14	Obezite	K	37	155	77	100	32	Karbonhidrat	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OC1	Kontrol	K	42	166	50	68	18	Dengeli	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OC2	Kontrol	E	36	174	67	78	22	Dengeli	Sık sık	Lise	Evet	Hiç
OC3	Kontrol	K	46	175	70	78	23	Dengeli	Sık sık	Lisans	Bazen	Hiç
OC4	Kontrol	K	35	165	49	66	18	Dengeli	Bazen	Lise	Evet	Hiç
OC5	Kontrol	E	52	178	70	78	24	Protein	Bazen	Lisans	Evet	Hiç
OC6	Kontrol	K	48	160	57	80	22	Dengeli	Sık sık	Lise	Bazen	Hiç
OC7	Kontrol	K	44	150	46	65	20	Vegan	Sık sık	Lisans	Bazen	Haftada bir
OC8	Kontrol	K	46	163	50	78	19	Protein	Sık sık	Lise	Bazen	Hiç
OC9	Kontrol	K	46	155	50	81	20	Protein	Bazen	Lise	Evet	Hiç
OC10	Kontrol	E	50	77	63	88	20	Protein	Bazen	Lise	Evet	Hergün
OC11	Kontrol	E	43	180	70	87	21	Protein	Sık sık	Lise	Evet	Hergün
OC12	Kontrol	E	37	180	76	92	23	Protein	Bazen	İlkokul	Bazen	Hiç

### 3.3. Metagenomik DNA İzolasyonu:

Uygun ortamda teslim alınan gaita numunelerinden QIAampPowerFecal DNA Kit (Cat No./ID: 12830-50) kullanılarak DNA izolasyonu işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem için yaklaşık 250 mg gaita tartılarak “DryBeadTube” içerisine alındı. Bu işlemden sonra aşağıdaki adımlar takip edildi:



1. 750 µl of PowerBead solüsyonu tüpe eklendi.
2. 60 µl C1 solüsyonu eklenmiştir ve tüp 3-4 defa altüst edilerek karıştırıldı.
3. Numuneler 65°C’de 10 dk inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonrasında tüpler 10 dakika maksimum hızda vortekslendi.
5. 13000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.
6. Süpernatant temiz 2 ml’lik toplama tüpüne aktarıldı (400-500 µl süpernatant).
7. Süpernatantın üzerine 250 µl C2 solüsyonu eklendi ve vortekslenerek karışması sağlandı. Numuneler 4 °C’de 5 dakika inkübe edildi.
8. 13,000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.
9. Yaklaşık 600 µl süpernatant yeni bir toplama tüpüne alındı.
10. 200 µl C3 solüsyonu eklenerek vorteksle karıştırılmıştır. Numuneler 4 °C’de 5 dakika inkübe edildi.
11. 13000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.
12. Süpernatant yeni bir toplama tüpüne alındı ve üzerine 1200 µl C4 solüsyonu eklendi. Tüpler 5 saniye kadar vortekslenerek solüsyonların karışması sağlandı.
13. Yaklaşık 650 µl süpernatant alınarak “MB Spin Column” içerisine yüklendi. 13000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı. Bu işlem süpernatant bitene kadar 3 kere tekrar edilerek DNA’nın kolona bağlanması sağlandı.
14. Kolon üzerine 500 µl C5 solüsyonu eklenerek 13000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.
15. Kolon yeni bir 2 ml’lik toplama tüpü içerisine yerleştirildi ve 100 µl solüsyon C6 kolonun merkezine gelecek şekilde eklendi.
16. 13000 x g hızda 1 dakika santrifüj yapıldı.
17. Elde edilen DNA örnekleri diğer işlemler için -20°C’de saklandı.

DNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin, kalite ve kantite kontrolleri üç ana yöntem kullanılarak belirlendi:

1. Nanodrop: DNA saflığını ölçmek için A260/A280 ölçümleri yapıldı.
2. Agaroz Jel Elektroforezi: DNA degradesyonu ve potansiyel kontaminasyonları belirlemek amacıyla yapıldı.

3. Qubit 2.0: DNA konsantrasyonunu belirlemek için kullanıldı.

Gerçekleştirilen üç analiz sonucunda DNA konsantrasyonları ve saflıkları çalışma için uygun bulundu (Miktarı  $\geq 120$  ng, Hacmi  $\geq 20$   $\mu$ l, Konsantrasyonu  $\geq 6$  ng/ $\mu$ l, Saflığı A260/A280= 1.7-1.8, No degradation, nocontamination).

### 3.4. PZR Uygulamaları ile 16S rRNA geninin Amplifikasyonu ve Dizilenmesi

Bakterial 16S ribosomal DNA'ya ait yaklaşık 450 bp uzunluğunda olan V6-V8 bölgesi B969F ve BA1406R primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Bu primerlere ait bilgiler aşağıda sunulmuştur.

**Tablo-2:** Bakterial 16S ribosomal DNA'ya ait primerler

Primer	Region	Sequence (5'- 3')
B969F	V6-V8	ACGCGHNRAACCTTACC
BA1406R		ACGGGCRGTGWGTRCAA

Kontrol PCR reaksiyonları sonrasında 16S rRNA kütüphanelerinin hazırlanması için primerlerin uç kısımlarına eklenmiş spesifik barcod ve adaptor dizileri kullanılarak daha önce şematize edilen adımlar izlenerek Illumina MiSeq platformuna uygun paired-end kütüphane hazırlanmıştır. Hazırlanan kütüphane kullanılarak Illumina MiSeq platformu ile ham diziler elde edilmiştir.

Ham dizi okumalarından adaptörler çıkarmak için Trimmomatic-0.33 programı kullanılmıştır.

### 3.5. Biyoinformatik Analizler

Biyoinformatik analizler QIIME v1.9.1 and Microbiome Helper yazılımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Dizilerin kalite skorlarının kontrol edilmesi amacıyla FastQC v0.11.5 kullanılmıştır. Çift yönlü-okumalar PEAR v0.9.10 programı kullanılarak, FASTX-Toolkit v0.0.14 kullanılarak diziler kalite skorlarına ve uzunluklarına göre filtre edilmiştir. Bu amaçla 400 bp'den küçük ve %90'ı Q30 skorunun altında olan diziler veriden çıkarılmıştır. Chimeric

diziler VSEARCH v2.4.3 algoritması kullanılarak veriden çıkarılmıştır. Düzenlenmiş ve chimeric dizileri çıkartılan veriler QIIME programı formatına getirmek için birleştirilmiş ve .fna formatında kaydedilmiştir. Operasyonel taksonomik birimler (OTUs) QIIME içerisinde yer alan SortMeRNA v2.1 kullanılarak referans tabanlı ve SumaClust 1.0.31 kullanılarak *de novo* olarak kümelenmiştir. OTUs GreenGenes veritabanı referans alınarak %97 benzerlik oranına göre oluşturulmuştur. Düşük güvene sahip (low confidence) ve singletons OTU'lar çıkarılmıştır. Örneklerde yüksek kaliteli dizilerin ve OTU'ların istatistikleri özetlenmiştir. OTU tablosunun normalizasyonu ve örneklerin aynı derinliğe sahip olması için minimum dizi sayısı olarak 4831 okuma derinliğinde normalizasyon yapılmıştır. Örnekler içerisinde yer alan OB13 kodlu örnek düşük okuma derinliği nedeniyle veriden çıkarılmıştır. UniFrac kullanılarak beta-diversity istatistikleri hesaplanmıştır. Alpha rarefaction hesaplamaları QIIME alpha\_rarefaction.py scripti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı taksonomik düzeylerde OTU'ların dağılımı bar plot olarak kaydedilmiştir. Oluşturulan OTU'ların istatistiksel analizi için STAMP v2 programı kullanılmıştır.

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada  $\alpha=0,05$   $\beta=0,20$  ( $1-\beta$ ) =0,80 alındığında hasta grubuna 14, kontrol grubuna 12 bireyin alınmasına karar verildi ve testin gücü  $p=0,80927$  bulundu. Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver: 22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımlar yerine getirildiğinde (Kolmo gorof-Simirnov) Bağımsız gruplar da iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi sayımla elde edilmiş verilerin değerlendirilmesinde Khi-kare testi kullanılarak yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. Analizler sonucunda oluşturulan taksonomik profiller STAMP 2.1.3 (STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çoklu grupların (beslenme tarzı gibi) değerlendirilmesinde istatistiksel test olarak ANOVA kullanılmıştır. Pos-hoc test için Welch's (uncorrected 0.95) tercih edilmiştir. İkili grupların (hasta-kontrol gibi) karşılaştırılmasında ise Welch's t-test kullanılmış olup, confidence interval yöntemi olarak DP: Welch's inverted (0,95) tercih edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamıza 14 obez hasta ve kontrol grubuna 12 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Obezite ( $44,35\pm 7,54$ ) ve kontrol grubundaki bireylerin ( $43,75\pm 5,44$ ) yaş ortalaması birbirine benzerdir ( $p=0,819$ ). Çalışmaya dahil edilen hastaların %50'si erkek, %50'si kadındır. Kontrol grubunda ise erkek oranı %41,6 iken kadın oranı %58,3'tür. Cinsiyet bakımından gruplar arasında bir fark bulunmamaktadır ( $p=0,971$ ).

Çalışmaya dahil edilen obezite hastası ve kontrol grubunun antropometrik parametreleri Tablo-3'de özetlenmiştir. Bu verilere göre ağırlık ( $p=0,001^*$ ), bel çevresi ( $p=0,001^*$ ) ve VKİ ( $p=0,001^*$ ) parametreleri anlamlı bulunmuştur.

**Tablo-3:** Obezite hastası ve kontrol grubunun antropometrik parametreleri

	<b>Obezite grubu (n=14)</b>	<b>Kontrol grubu (n=12)</b>	<b><i>t</i></b>	<b><i>p</i></b>
<b>Yaş (yıl)</b>	44,35±7,54	43,75±5,44	<b>0,23</b>	<b>0,819</b>
<b>Boy (cm)</b>	166±10,41	168,58±10,20	<b>0,63</b>	<b>0,531</b>
<b>Ağırlık (kg)</b>	96,92±17,15	59,83±10,61	<b>6,49</b>	<b>0,001*</b>
<b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	35,59±4,63	20,83±1,99	<b>10,62</b>	<b>0,001*</b>
<b>Bel çevresi (cm)</b>	109,28±12,95	78,25±8,54	<b>7,07</b>	<b>0,001*</b>

**\* $p<0,05$  önemli**

Veriler ortalama±SS olarak verilmiştir *t*: Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesi

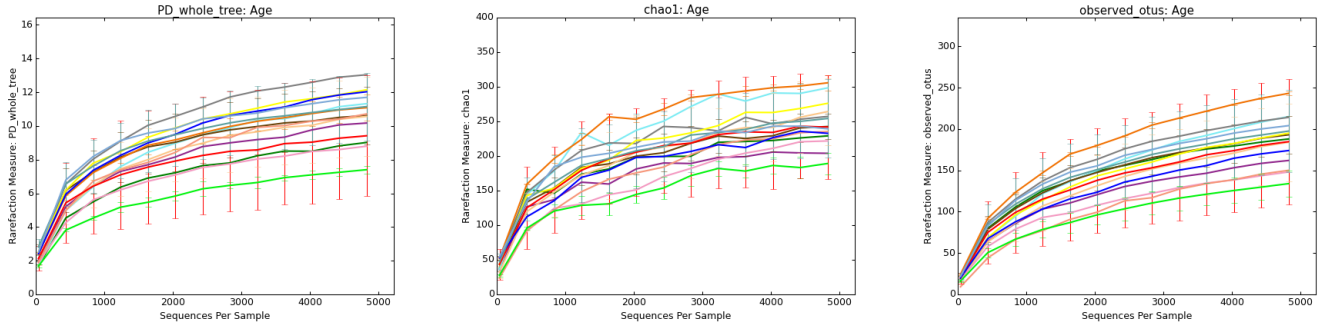
*p*: Obezite ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

Çalışma kapsamında ilgili gruplar arasında bakterilerin kompozisyonu, oransal farklılıklar ve incelenen faktörlerle ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Gerçekleştirilen analizlerin sonuçları başlıklar halinde verilmiştir. Alfa ve beta çeşitlilikleri ortaya çıkaran analizler gerçekleştirilmiştir. Alfa çeşitlilik (Alpha diversity) ele alınan örnek içerisindeki ya da gruplanmış veri içerisindeki çeşitliliği ifade ederken; beta çeşitlilik (Beta diversity) ise incelenen kümenin diğer kümeye göre çeşitliliğini ifade etmektedir.

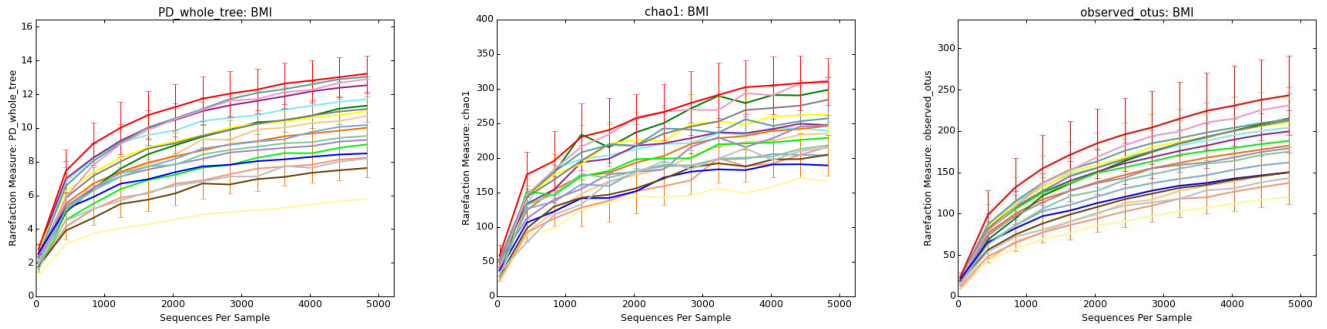
## 4.1. Alfa Çeşitlilik

Farklı parametreler içerisinde yer alan örneklerin Alpha çeşitlilik indeksleri; Chao1, observed otu ve PD (phylogenetic diversity) olmak üzere üç farklı yöntem ile belirlenmiştir. Bu veriler kullanılarak oluşturulan grafikler aşağıda sunulmuştur. Bu grafikler alfa çeşitlilik açısından incelenen örneklerin farklılaşmadığını göstermektedir. Çünkü grafiğe ait eğriler üst üste çakışmaktadır. Bu nedenle farklılaşma için daha ileri analizler yapmak gerekmektedir.

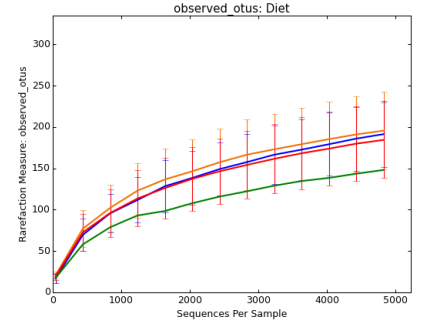
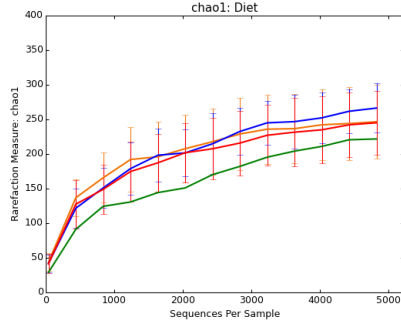
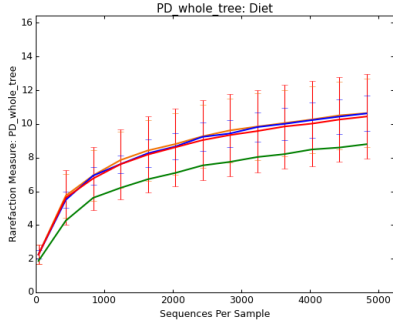
**Grafik-1:** Yaşları farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



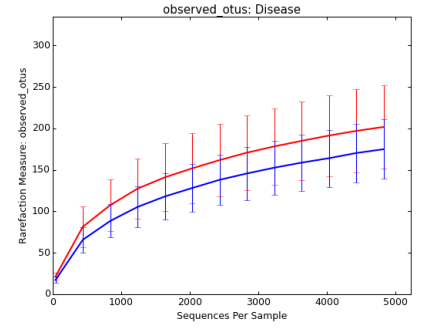
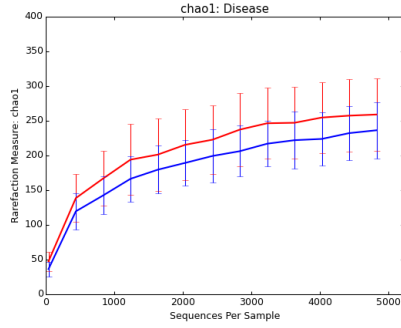
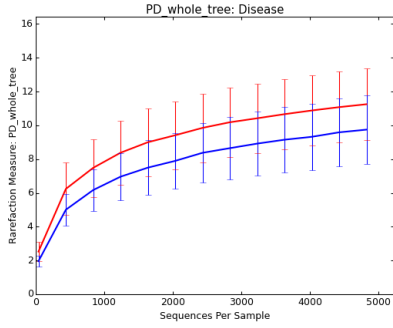
**Grafik-2:** Beden kitle indeksleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



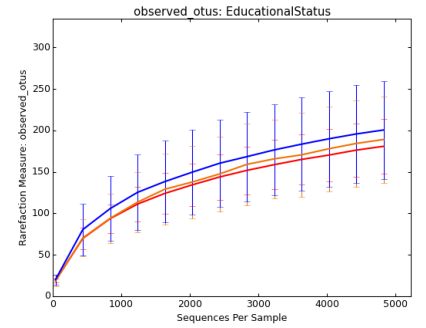
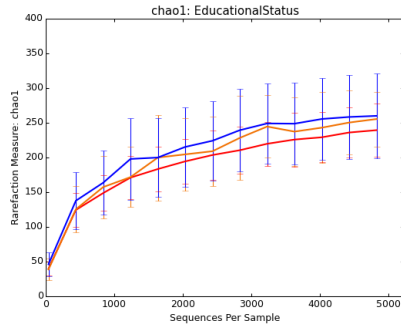
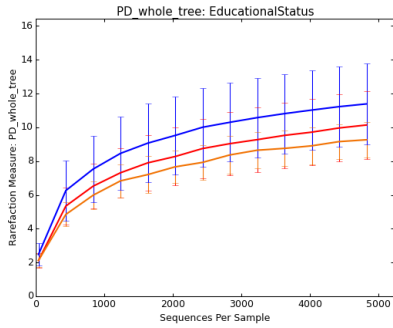
**Grafik-3:** Beslenme şekilleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



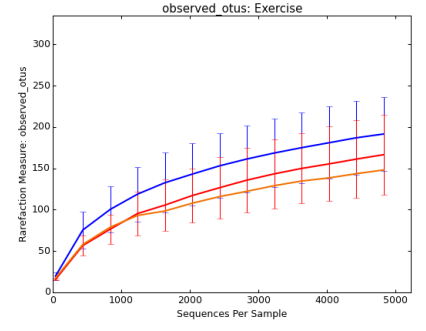
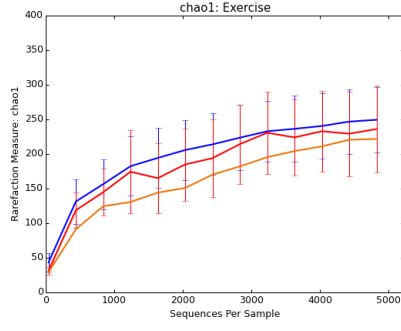
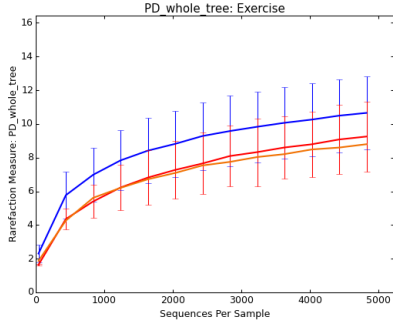
**Grafik-4:** Obezite-kontrol grubundaki bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



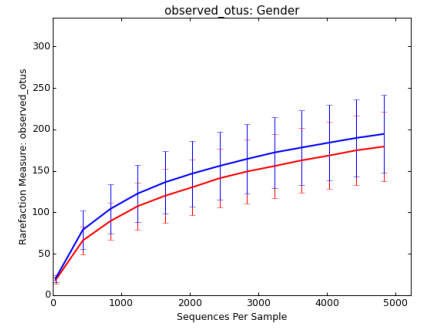
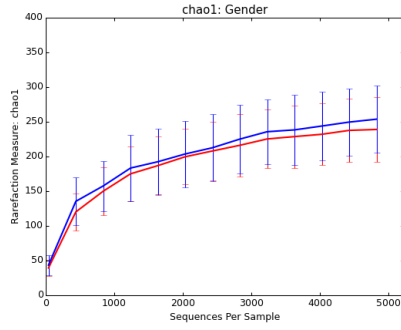
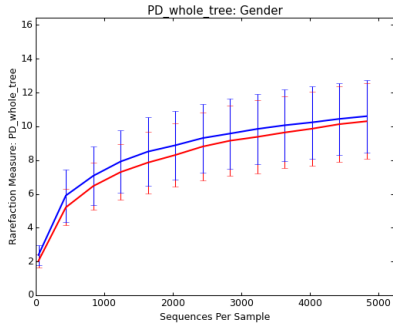
**Grafik-5:** Eğitim durumu farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



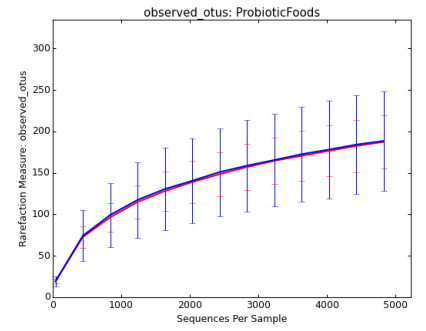
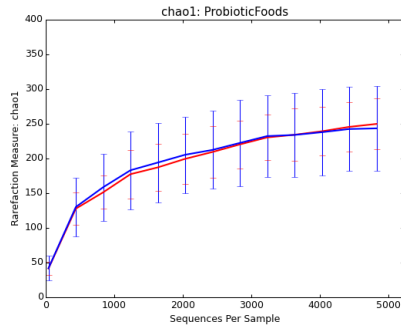
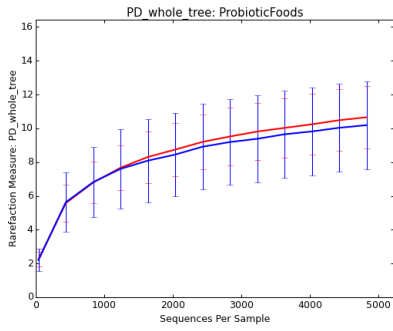
**Grafik-6:** Egzersiz durumu farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



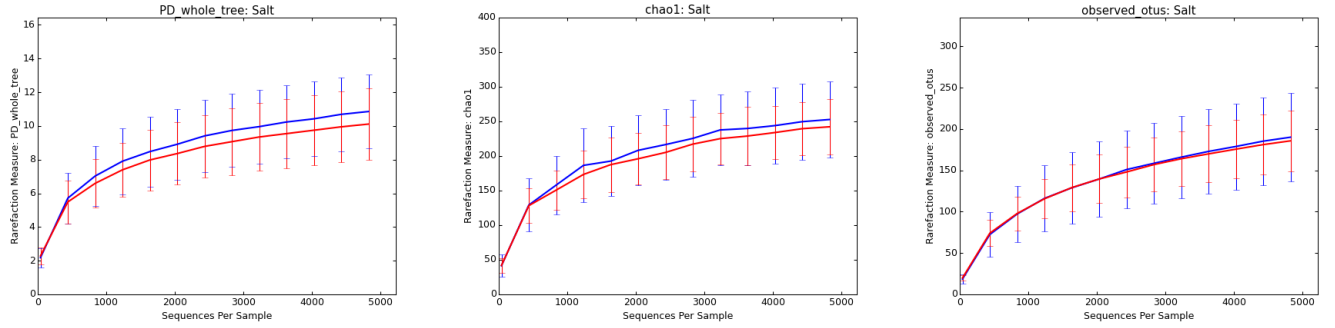
**Grafik-7:** Cinsiyetleri farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



**Grafik-8:** Probiyotik kullanımı farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



**Grafik-9:** Tuz kullanımını farklı olan bireylerin preparatlarının okunma sayısına göre belirlenen alfa çeşitlilik değerleri



#### 4.2. Beta Çeşitlilik (UniFrac-PCoA-Principal Coordinates Analysis)

UniFrac (Lozupone, Lladser, Knights, Stombaugh, & Knight, 2010) biyolojik kominiteler arasındaki uzaklığı (distance) karşılaştıran bir istatistiksel yöntemdir. Kısaca örnekler (örnek bir kominiteyi kapsamaktadır, bağırsak mikrobiyomu bir örneğe ait ama içerisinde birden fazla organizma içermektedir) arasındaki ikili uzaklığı hesaplayarak tüm örneklemin birbiri arasındaki benzerliği yada farklılığı açığa çıkarmaktadır.

UniFrac testi iki farklı şekilde yapılmaktadır:

**Unweighted UniFrac (Kalitatif):** Gözlemlenen organizmaların varlığı yada yokluğunu kullanır.

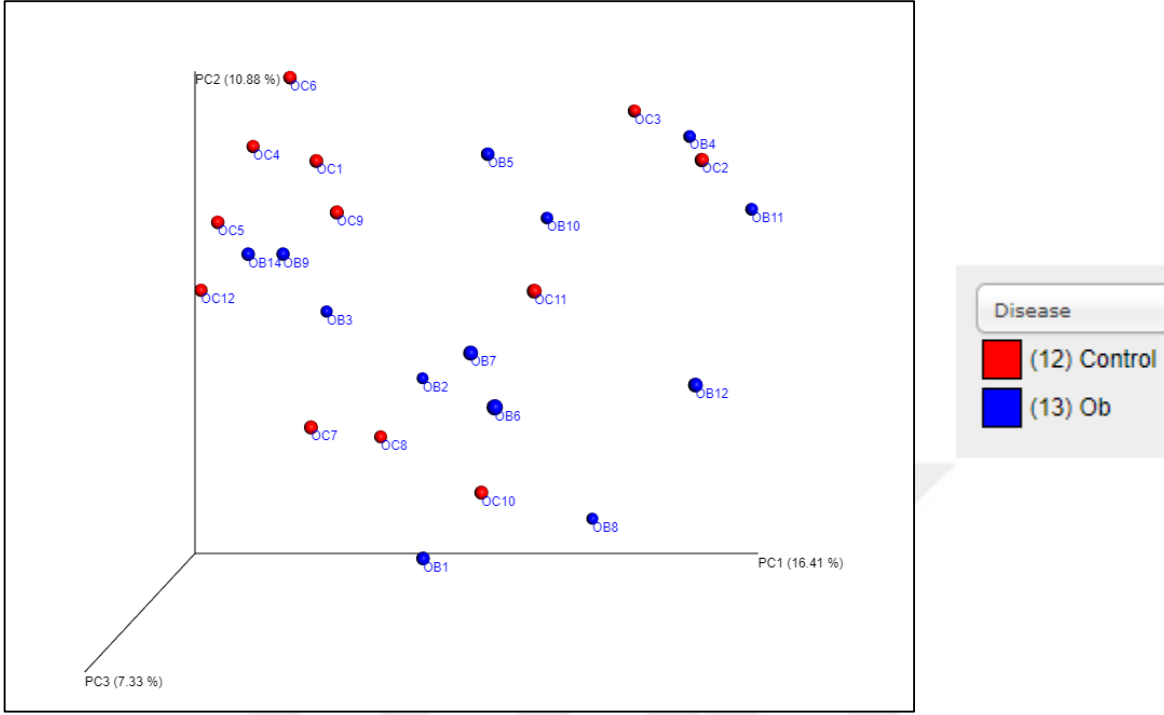
**Weighted UniFrac (Kantitatif):** Gözlemlenen organizmaların (observed) miktarını dikkate alır.

Böylelikle oluşturulan çok boyutlu veri PCoA ile görselleştirilerek karşılaştırılan gruplar arasındaki benzerlik ve kümelenmeler açığa çıkarılabilmektedir. Bu şekilde oluşturulan PCoA grafikleri aşağıda sunulmuştur. Farklı renklendirmeler ile kümelenmeler incelenmiştir.

##### 4.2.1. Unweighted UniFrac (Kalitatif) PCoA Grafiği

**Grafik-10:** Oluşturulan PCoA grafiği metadata içerisinde yer alan hasta ve kontrol grubuna göre renklendirilmiştir. Grafikteki kırmızılar kontrol grubunu, maviler ise obezite hastalığı olan grubu ifade etmektedir.

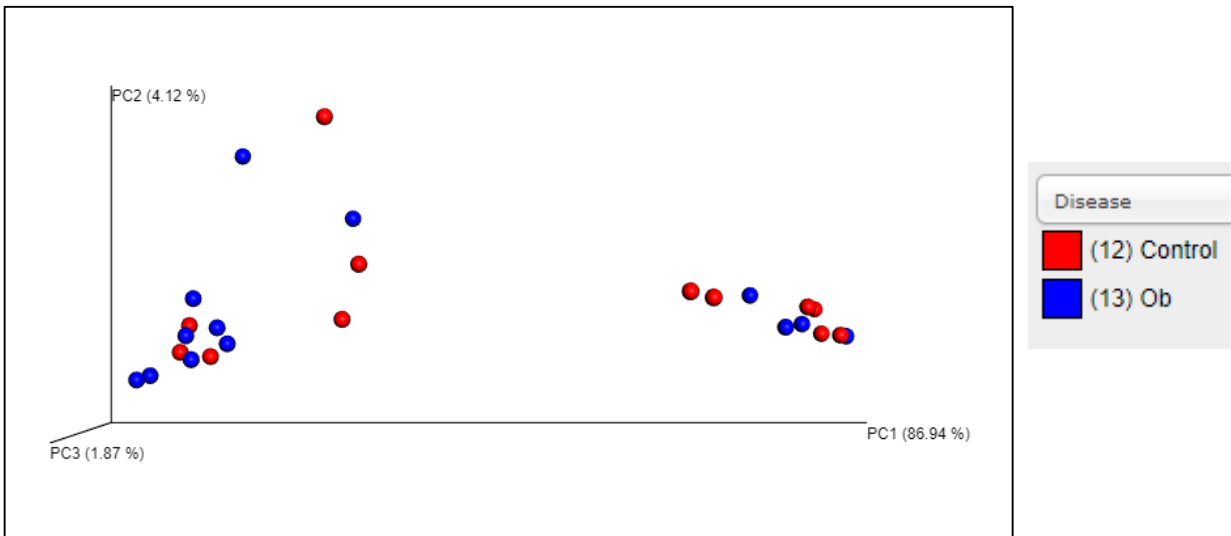




Her iki grubun karşılaştırılmasında karışık bir dağılım görülmesi ve gruplaşma olmaması sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).

#### 4.2.2. Weighted UniFrac (Kantitatif) PCoA Grafiği

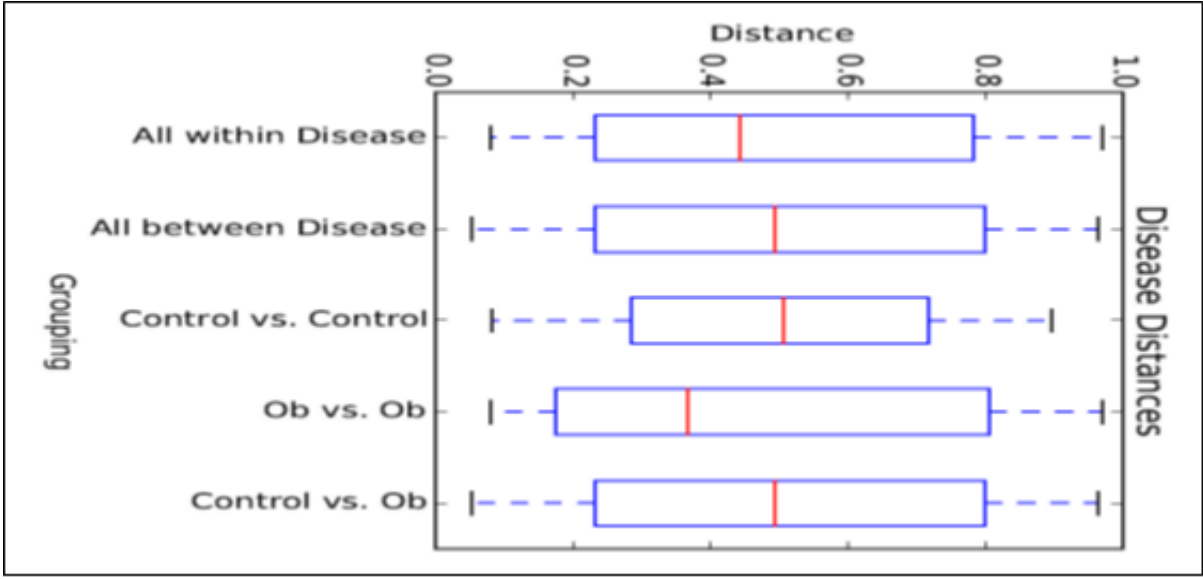
**Grafik-11:** Oluşturulan PCoA grafiği metadata içerisinde yer alan hasta ve kontrol grubuna göre renklendirilmiştir. Grafikteki kırmızılar kontrol grubunu, maviler ise obezite hastalığı olan grubu ifade etmektedir.



Her iki grubun karşılaştırılmasında karışık bir dağılım görülmesi ve gruplaşma olmaması sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ).

### 4.3. Örnekler/Gruplar arasında Beta Çeşitlilik Mesafesi

**Grafik-12:** “Two-sided Student’s t-test” sonuç grafiği



Hesaplanan Beta-çeşitlilik skorlarına göre hasta-kontrol grupları arasında ve kendi içinde gösterdiği farklılığın istatistiksel olarak ifade edilerek grafikleştirilmesi yapılmıştır. Ayrıca gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık kullanılmıştır. Bütün gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ).

### 4.4. OTU'ların Taksonomik Dağılım ve Göreceli Oranları

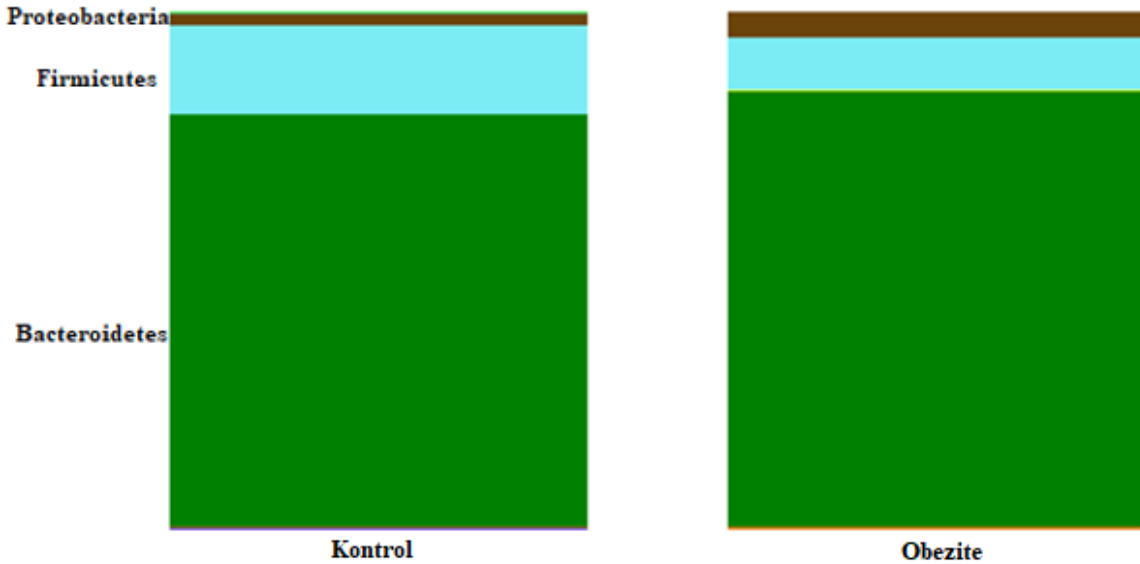
Gerçekleştirilen çalışma kapsamında çeşitli faktörlerin bağırsak mikrobiyotası (bakteriyel) üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda incelenen faktörlere göre bağırsak mikrobiyomunda bulunan bakterilerin kompozisyonu ve göreceli miktarları karşılaştırılmıştır. Aşağıda bazı faktörlere göre bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu phylum, class, order (takım), family (aile) ve genus (cins) düzeylerinde verilmiştir.

## Hasta ve Kontrol grubu

### Filum

Filum düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %81,9 Bacteroidetes, %13,8 Firmicutes, %3,4 Proteobacteria, %0,4 Actinobacteria, %0,2 Tenericutes ve %0,1 Verrucomicrobia'dan oluştuğu görülmektedir (Tablo-4). Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Bacteroidetes'in obezite grubunda (%84,2) kontrol grubuna (%79,6) göre yüksek olduğu, Firmicutes'in kontrol grubunda (%17,2) obezite grubuna (%10,3) göre yüksek olduğu ve Proteobacteria'nın obezite grubunda (%4,7) kontrol grubuna (%2,1) göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Yine kendi içerisinde Verrucomicrobia düzeyi kontrol grubunda (%0,3) ( $p=0,022$ ) obezite grubuna göre yüksek bulunmuştur (Tablo-4).

**Tablo-4:** Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin filum düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol)

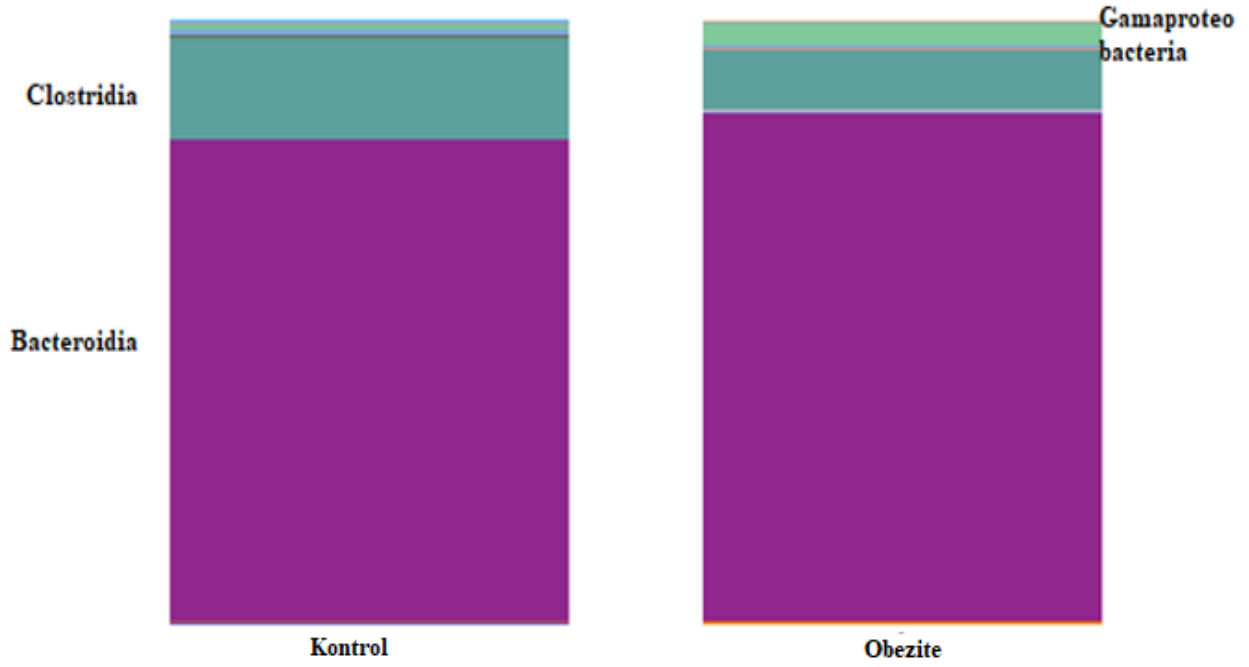


Legend	Taxonomy	Total %	Control %	Ob %
	Unassigned;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k__Bacteria;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k__Bacteria;p__Actinobacteria	0.4%	0.4%	0.4%
	k__Bacteria;p__Bacteroidetes	81.9%	79.6%	84.2%
	k__Bacteria;p__Cyanobacteria	0.0%	0.0%	0.0%
	k__Bacteria;p__Elusimicrobia	0.0%	0.0%	0.1%
	k__Bacteria;p__Firmicutes	13.8%	17.2%	10.3%
	k__Bacteria;p__Fusobacteria	0.0%	0.0%	0.0%
	k__Bacteria;p__Lentisphaerae	0.0%	0.0%	0.0%
	k__Bacteria;p__Proteobacteria	3.4%	2.1%	4.7%
	k__Bacteria;p__Tenericutes	0.2%	0.3%	0.1%
	k__Bacteria;p__Verrucomicrobia	0.1%	0.3%	0.0%

### Sınıf

Sınıf düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %81,9 Bacteroidia, %13,4 Clostridia ve %2,5 Gammaproteobacteria'dan oluştuğu görülmektedir (Tablo-5). Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Clostridia'nın kontrol grubunda (%16,8) obezite grubuna (%10) göre yüksek olduğunu ve Gammaproteobacteria'nın obezite grubunda (%4) kontrol grubuna (%1) göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca kontrol grubunda Verrucomicrobiae (%0,3) (p=0,028) ve Deltaproteobacteria (%0,1) (p=0,032) düzeyleri yüksek bulunmuştur (Tablo-5).

**Tablo-5:** Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin sınıf düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol)

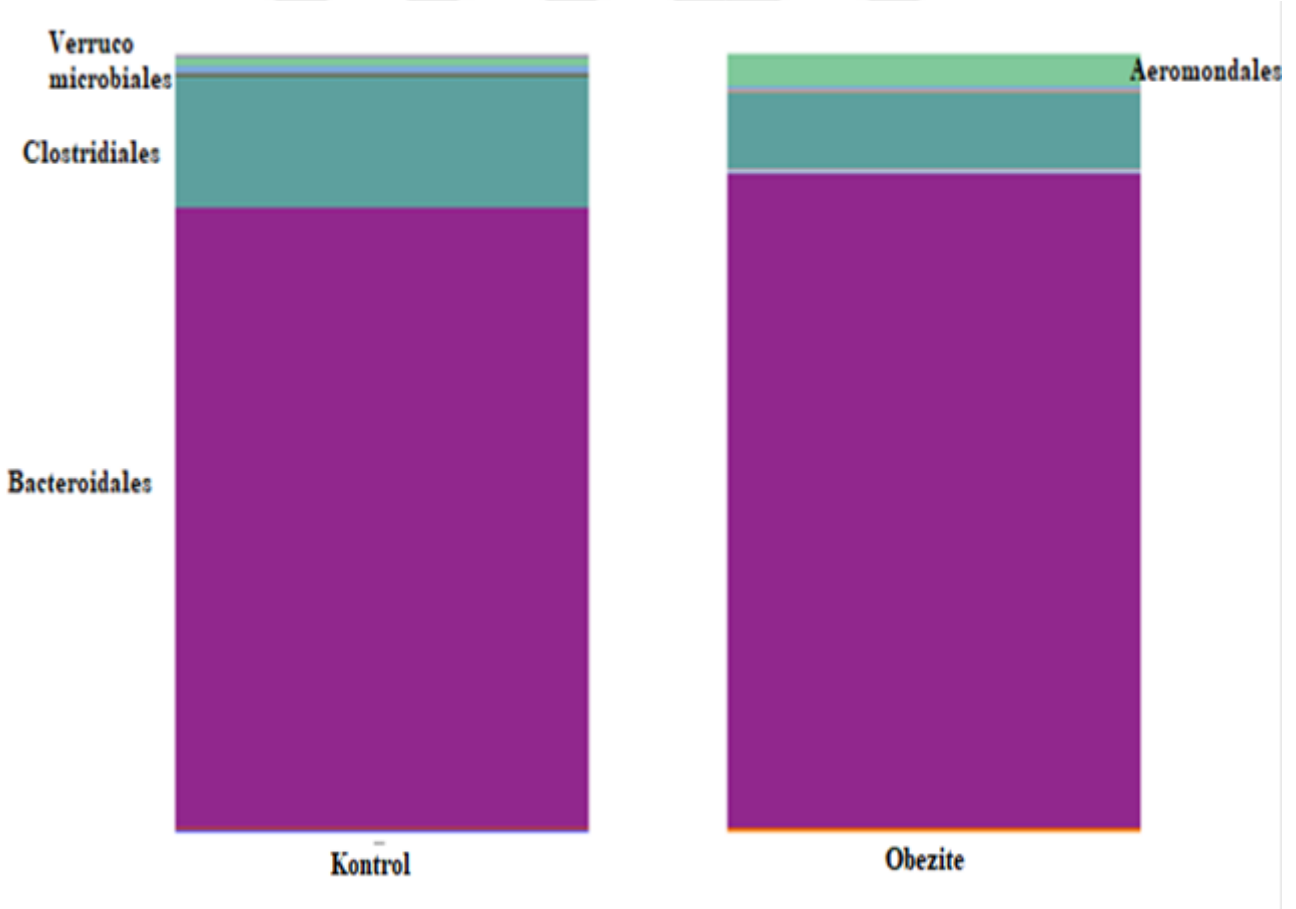


Legend	Taxonomy	Total %	Control %	Ob %
	Unassigned;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria	0.4%	0.3%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia	81.9%	79.6%	84.2%
	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli	0.2%	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia	13.4%	16.8%	10.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi	0.2%	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_[Lentisphaeria]	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria	0.8%	0.9%	0.7%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria	0.1%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria	2.5%	1.0%	4.0%
	k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes	0.2%	0.3%	0.1%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae	0.1%	0.3%	0.0%

## Takım

Takım düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %81,9 Bacteroidales, %13,4 Clostridiales ve %2,2 Aeromonadales'den oluştuğu görülmektedir (Tablo-6). Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Clostridiales'in kontrol grubunda (%16,8) obezite grubuna (%10) göre yüksek olduğunu ve Aeromonadales'in obezite grubunda (%3,6) kontrol grubuna (%0,8) göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca Verrucomicrobiales (%0,3) ( $p=0,028$ ) ve Desulfovibrionales (%0,1) ( $p=0,032$ ) düzeyleri kontrol grubunda fazla bulunmuştur (Tablo-6).

**Tablo-6:** Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin takım düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol)

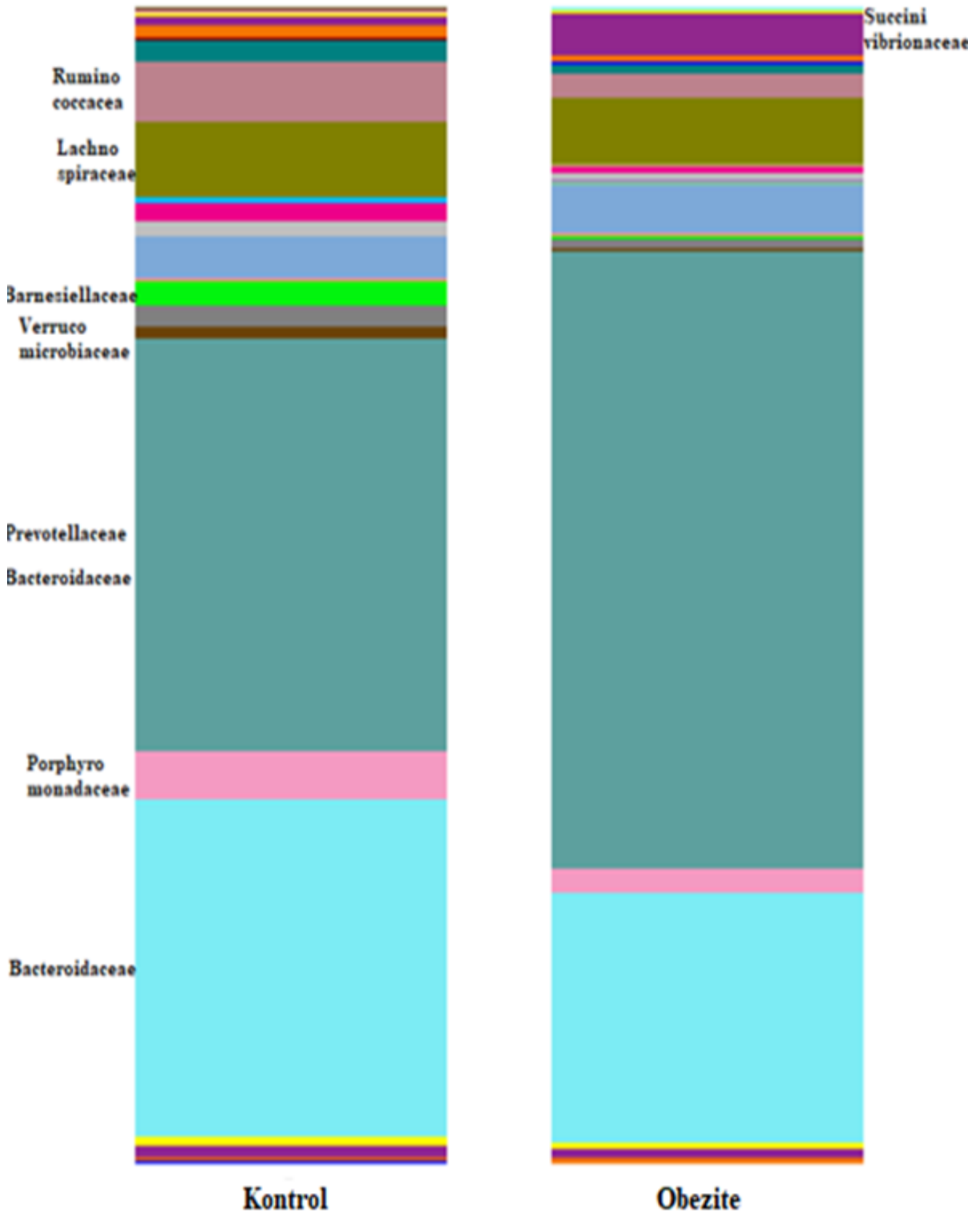


Legend	Taxonomy	Total %	Control %	Ob %
	Unassigned;Other;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;Other;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales	0.4%	0.3%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales	81.9%	79.6%	84.2%
	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_YS2	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_Elusimicrobiales	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales	0.2%	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales	13.4%	16.8%	10.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales	0.2%	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_[Lentisphaeria];o_Victivallales	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_RF32	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales	0.8%	0.9%	0.7%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales	0.1%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales	2.2%	0.8%	3.6%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales	0.2%	0.2%	0.3%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pasteurellales	0.1%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_RF39	0.2%	0.3%	0.1%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_[Cerasicoccales]	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales	0.1%	0.3%	0.0%

## Aile

Aile düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %25,4 Bacteroidaceae, %3,1 Porhpyromonadaceae, %44,6 Prevotellaceae, %3,9 Paraprevotellaceae, %6,1 Lachnospiraceae, %3,7 Ruminococcaceae, %2,2 Succinivibrionaceae'den oluştuğu görülmektedir (Tablo-7). Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Bacteroidaceae'in kontrol grubunda (%29,1) obezite grubuna (%21,7) göre yüksek olduğu, Porhpyromonadaceae'nin kontrol grubunda (%4,2) obezite grubuna (%2) göre yüksek olduğu, Prevotellaceae'nin obezite grubunda (53,6) kontrol grubuna (35,7) göre yüksek olduğu, Paraprevotellaceae'nin obezite grubunda (%4,2) kontrol grubuna (%3,6) göre yüksek olduğu, Ruminococcaceae'nin kontrol grubunda (%5,3) (p=0,021) obezite grubuna (%2) göre yüksek olduğu ve Succinivibrionaceae'nin obezite grubunda (%3,6) kontrol grubuna (%0,8) göre yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca Verrucomicrobiceae (p=0,028), Barnesiellaceae (p=0,029), Desulfovibrionaceae (p=0,032) ve Odoribacteraceae (p=0,036) 'nın kontrol grubunda obezite grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür (Tablo-7)

**Tablo-7:** Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin aile düzeyinde karşılaştırılması  
(Ob: Obezite, Control: Kontrol)



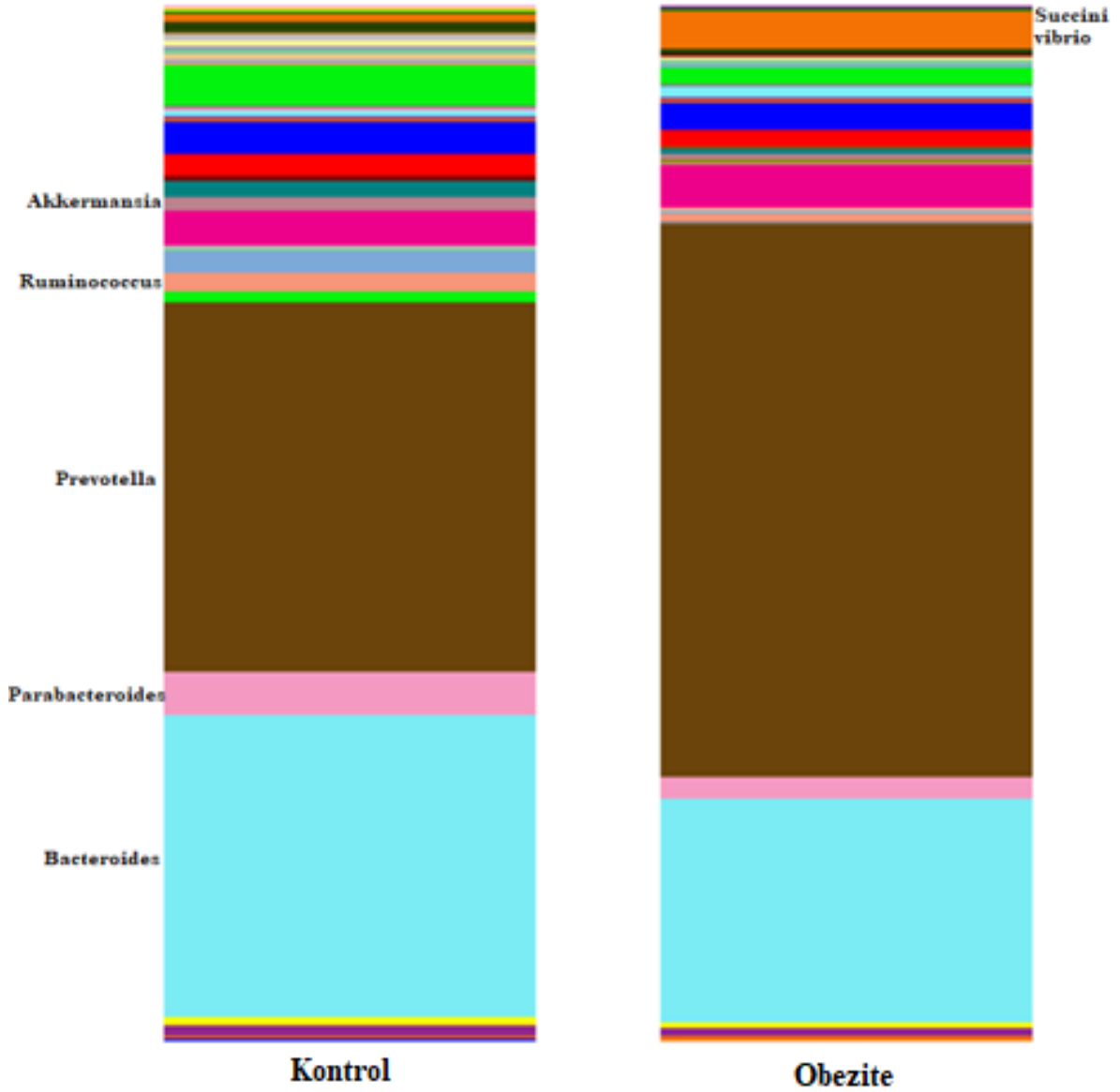


Legend	Taxonomy	Total %	Control %	Ob %
	Unassigned;Other;Other;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;Other;Other;Other;Other	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae	0.4%	0.3%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;Other	0.9%	1.0%	0.8%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_	0.7%	0.9%	0.6%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae	25.4%	29.1%	21.7%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae	3.1%	4.2%	2.0%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae	44.6%	35.7%	53.6%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae	0.5%	0.9%	0.2%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_S24-7	1.3%	1.9%	0.7%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Barnesiellaceae]	1.2%	1.9%	0.4%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Odoribacteraceae]	0.2%	0.3%	0.1%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae]	3.9%	3.6%	4.2%
	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_YS2;f_	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_Elusimicrobiales;f_Elusimicrobiaceae	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae	0.1%	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;Other	1.0%	1.4%	0.7%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_	1.0%	1.6%	0.5%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Christensenellaceae	0.2%	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae	0.2%	0.2%	0.2%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae	6.1%	6.3%	5.8%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae	3.7%	5.3%	2.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae	1.2%	1.7%	0.8%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae	0.2%	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Fusobacteriaceae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_[Lentisphaeria];o_Victivallales;f_Victivallaceae	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_RF32;f_	0.0%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae	0.8%	0.9%	0.7%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae	0.1%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae	2.2%	0.8%	3.6%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae	0.2%	0.2%	0.3%
	k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pasteurellales;f_Pasteurellaceae	0.1%	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_RF39;f_	0.2%	0.3%	0.1%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_[Cerasiococcales];f_[Cerasiococcaceae]	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae	0.1%	0.3%	0.0%

## Cins

Cins düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %25,4 Bacteroides, %3,1 Parabacteroides, %44,6 Prevotella, %3,7 Prevotella (Paraprevotellacea ailesinden), %2,2 Succinivibrio'dan oluştuğu görülmektedir (Tablo-8).

**Tablo-8:** Kontrol ve obezite gruplarında fekal bakteriyel örneklerin cins düzeyinde karşılaştırılması (Ob: Obezite, Control: Kontrol)



Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Bacteroides'in kontrol grubunda (%29,1) obezite grubuna (%21,7) göre yüksek olduğu, Parabacteroides'in kontrol grubunda (%4,2) obezite grubuna (%2) göre yüksek olduğu, Prevotella'nın obezite grubunda (%53,6) kontrol grubuna (%35,7) göre yüksek olduğu, Succinivibrio'nun obezite grubunda (%3,6) kontrol grubuna (%0,8) göre yüksek olduğu ve Akermansia cinsi kontrol grubunda (%0,3) bulunurken obezite grubunda görülmediği anlaşılmaktadır (Tablo-8).

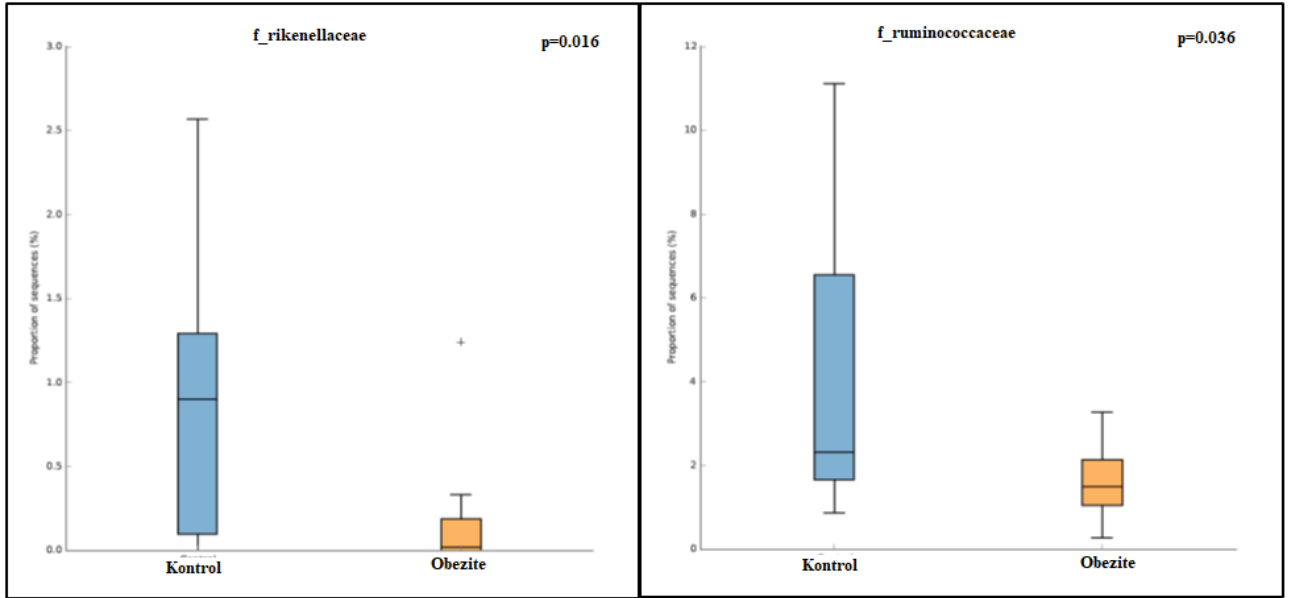
Legend	Taxonomy	Total %	Control %	Ob %
Unassigned;Other;Other;Other;Other;Other		0.0%	0.1%	0.0%
k_Bacteria;Other;Other;Other;Other;Other		0.0%	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bifidobacterium		0.4%	0.3%	0.4%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Coriobacteria;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;Other		0.0%	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;Other;Other		0.9%	1.0%	0.8%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_g		0.7%	0.9%	0.6%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Bacteroides		25.4%	29.1%	21.7%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Parabacteroides		3.1%	4.2%	2.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Porphyrimonadaceae;g_Porphyrimonas		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotella		44.6%	35.7%	53.6%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;Other		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g		0.5%	0.9%	0.2%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_S24-7;g		1.3%	1.9%	0.7%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Barnesiellaceae];g		1.2%	1.9%	0.4%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Odoribacteraceae];g_Butyricimonas		0.1%	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Odoribacteraceae];g_Odoribacter		0.1%	0.1%	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];Other		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_CF231		0.1%	0.1%	0.1%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_Paraprevotella		0.1%	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_[Prevotella]		3.7%	3.3%	4.1%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_Y52;f_g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_Elusimicrobiales;f_Elusimicrobiaceae;g		0.0%	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus		0.1%	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Streptococcus		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;Other;Other		1.0%	1.4%	0.7%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_g		1.0%	1.6%	0.5%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Christensenellaceae;g		0.2%	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Clostridium		0.1%	0.2%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;Other		1.8%	2.1%	1.5%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g		2.8%	3.0%	2.7%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Blautia		0.3%	0.2%	0.3%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Coproccoccus		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Dorea		0.1%	0.2%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnobacterium		0.1%	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospira		0.7%	0.5%	1.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Roseburia		0.2%	0.2%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_[Ruminococcus]		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae;g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;Other		0.2%	0.3%	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g		2.7%	3.9%	1.5%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Faecalibacterium		0.3%	0.3%	0.2%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Oscillospira		0.1%	0.1%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g_Ruminococcus		0.4%	0.6%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g		0.5%	0.4%	0.5%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Acidaminococcus		0.1%	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Dialister		0.3%	0.5%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Megasphaera		0.3%	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Mitsuokella		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Veillonellaceae;g_Phascolarctobacterium		0.0%	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g		0.1%	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Erysipelotrichi;o_Erysipelotrichales;f_Erysipelotrichaceae;g_[Eubacterium]		0.0%	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Fusobacteriaceae;g_Fusobacterium		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;g_Sneathia		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Lentisphaerae;c_[Lentisphaeria];o_Victivallales;f_Victivallaceae;g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_RF32;f_g		0.0%	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_Sutterella		0.8%	0.9%	0.7%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae;g_Bilophila		0.0%	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfovibrionales;f_Desulfovibrionaceae;g_Desulfovibrio		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Succinivibrionaceae;g_Succinivibrio		2.2%	0.8%	3.6%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g		0.2%	0.2%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pasteurellales;f_Pasteurellaceae;g_Haemophilus		0.1%	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Tenericutes;c_Mollicutes;o_RF39;f_g		0.2%	0.3%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Opitutae;o_[Cerasiococcales];f_[Cerasiococaceae];g		0.0%	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Verrucomicrobiaceae;g_Akkermansia		0.1%	0.3%	0.0%

#### 4.5. Taksonomik Kompozisyonun ve Görelî Oranlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Analizler sonucunda oluşturulan taksonomik profiller STAMP 2.1.3 (STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles) programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Parks, Tyson, Hugenholtz, & Beiko, 2017). Çoklu grupların (beslenme tarzı gibi) değerlendirilmesinde istatistiksel test olarak ANOVA kullanılmıştır. Pos-hoc test için Welch's (uncorrected 0.95) kullanılmıştır. İkili grupların (hasta-kontrol gibi) karşılaştırılmasında ise Welch's t-test kullanılmıştır ve confidence interval yöntemi olarak DP: Welch's inverted (0,95) kullanılmıştır. Bu analizlere göre istatistiksel olarak önemli bulunan veriler aşağıda sunulmuştur.

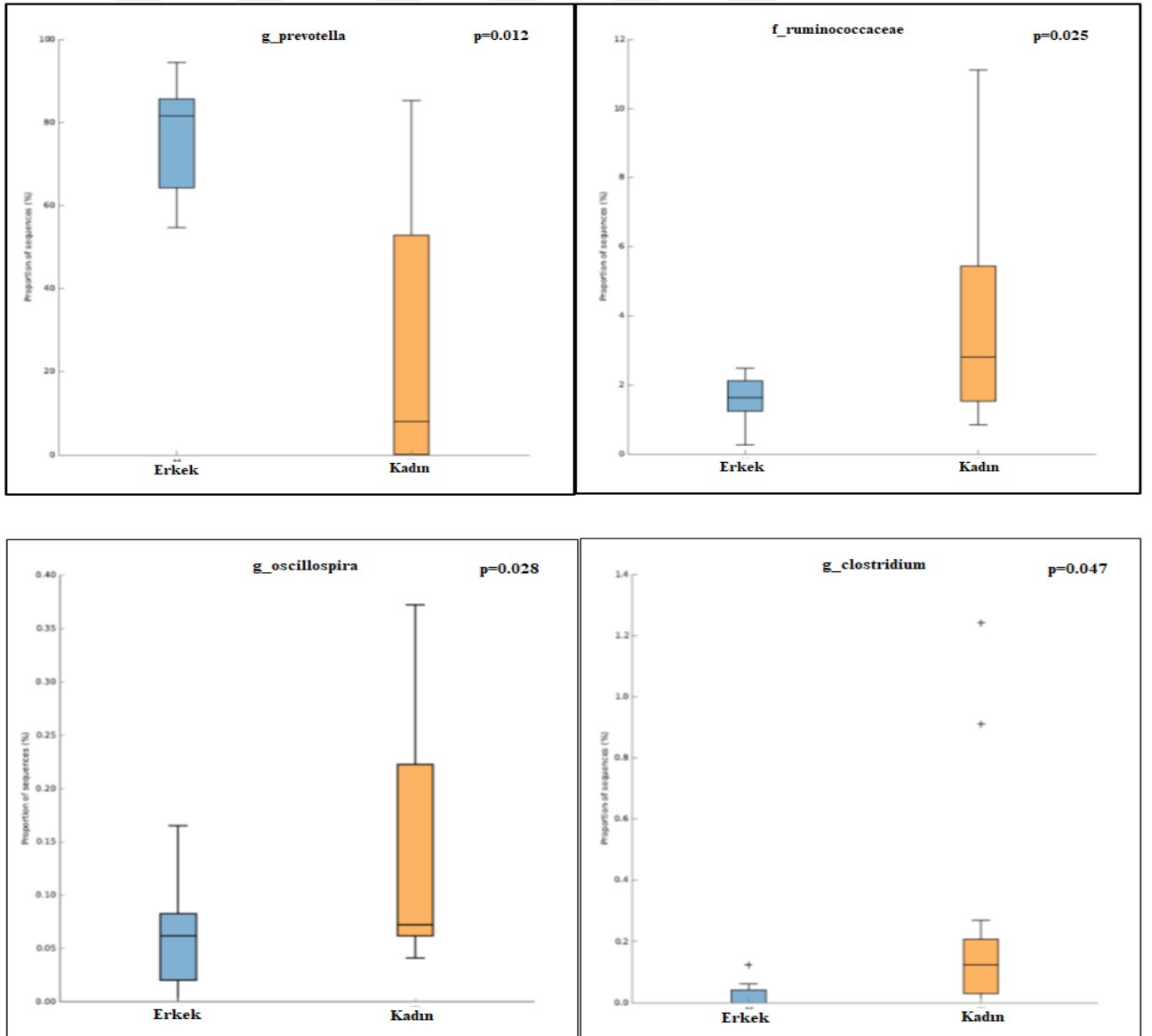
Obezite ve kontrol grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinde anlamlı derecede farklılık saptandı (Grafik-13). Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinin her ikisinde sırayla  $p=0,016$  ve  $p=0,036$  değerleriyle kontrol grubunda fazla olduğu görüldü.

**Grafik-13:** Hasta ve kontrol grubunun Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun kontrol grubunu, Sarı sütun obezite grubunu göstermektedir.)



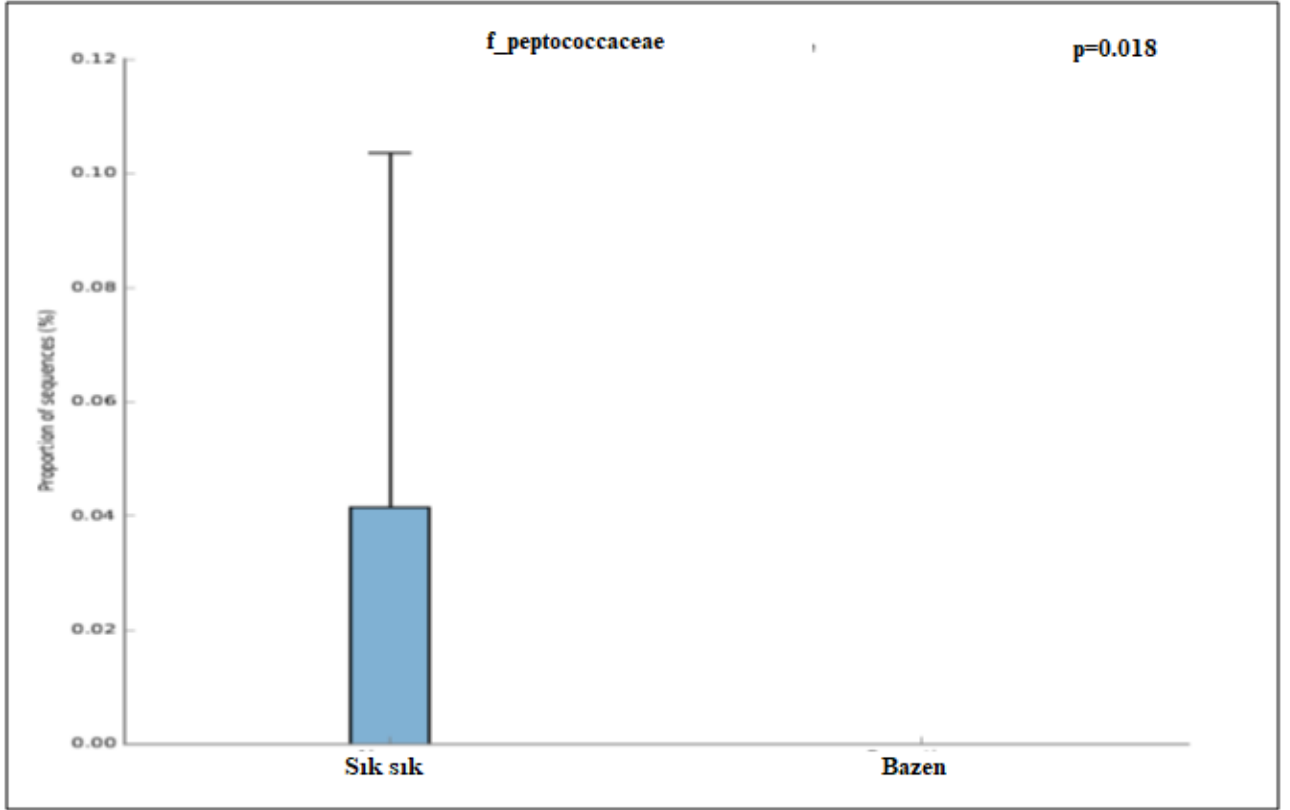
Kadın ve erkek hasta grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Prevotella, Oscillospira, Clostridium ve Ruminococcaceae düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı (Grafik-14). Oscillospira, Clostridium ve Ruminococcaceae düzeylerinin hepsinin sırayla  $p=0,028$ ,  $p=0,047$  ve  $p=0,025$  değerleriyle kadın hasta grubunda fazla olduğu görüldü. Prevotella cinsinin ise  $p=0,012$  değeriyle erkek hasta grubunda fazla olduğu görüldü.

**Grafik-14:** Kadın ve erkek hasta grubunun Prevotella, Ruminococcaceae, Oscillospira ve Clostridium düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun erkek hasta grubunu, sarı sütun kadın hasta grubunu göstermektedir.)



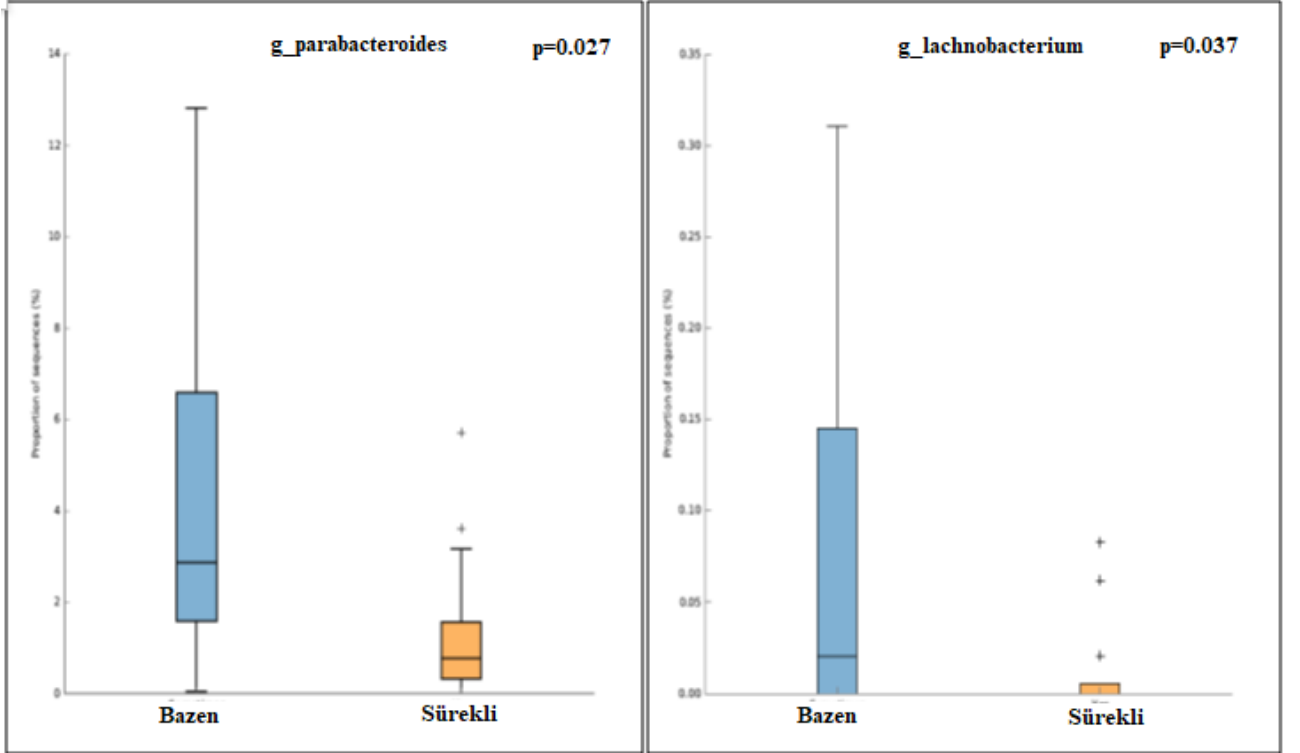
Sürekli ve bazen probiyotik kullanan hasta grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Peptococcaceae düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı (Grafik-15). Peptococcaceae düzeyinin  $p=0,018$  değeriyle sürekli probiyotik kullanan hasta grubunda fazla olduğu görüldü.

**Grafik-15:** Sürekli ve bazen probiyotik kullanan hasta grubunun Peptococcaceae düzeyinin karşılaştırılması (Mavi sütun sürekli probiyotik kullanan hasta grubunu, sarı sütun bazen probiyotik kullanan hasta grubunu göstermektedir.)



Sürekli ve bazen tuz kullanımı olan hasta grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Parabacteroides ve Lachnobacterium düzeylerinde anlamlı derecede farklılık saptandı (Grafik-16). Parabacteroides ve Lachnobacterium düzeylerinin her ikisinde sırayla  $p=0,027$  ve  $p=0,037$  değerleriyle bazen tuz kullanan hasta grubunda fazla olduğu görüldü.

**Grafik-16:** Tuz kullanımına göre hasta gruplarının Parabacteroides ve Lachnobacterium düzeylerinin karşılaştırılması (Mavi sütun bazen tuz kullananları, sarı sütun sürekli tuz kullanımı olan grubu göstermektedir.)



## 5. TARTIŞMA

Son yıllarda obezitenin artan prevalansı sadece insan genomundaki, beslenme alışkanlığındaki veya günlük fiziksel aktivitedeki değişiklikler ile açıklanamamaktadır. Bütün bunlara ilave olarak, hayatın her aşamasında enerji dengesine katkısı olduğu gösterilmiş bir çevresel faktör daha bulunmaktadır. Hem insan hem de hayvan çalışmalarında, bağırsak mikrobiyotası olarak isimlendirilen bu faktörün obezite ile sonuçlanabilen birçok intestinal biyolojik fonksiyonda ve metabolik hastalık oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (4).

Mikroorganizmalar yaklaşık olarak 3,2 milyar yıldır dünyadaki yaşamlarını sürdürmektedir. Bizler ise, bu mikroorganizmaların egemenliğindeki dünyaya adapte olarak hayatımızı devam ettirmekteyiz. Bebeklerin başlangıç mikrobiyotası anneden vajinal ve fekal kontaminasyon ile kazanılmaktadır (106). Sonrasında ise, bağırsağın mikrobiyal içeriği yaş, cinsiyet, coğrafik bölge, etnisite, beslenme alışkanlıklarına göre değişmekte ve yaşam süresince prebiyotikler, probiyotikler ve antibiyotikler tarafından düzenlenmektedir (112). Fizyolojik koşullarda intestinal mikrobiyota son derece dinamik bir denge içerisinde. Bu dengenin bozulması metabolik hastalıklar ile ilişkili komplikasyonlara neden olabilmektedir. Obezite ile sonuçlanabilen bu ilişkinin aydınlatılabilmesi amacıyla obezitesi olan hastalar ile sağlıklı kontrollerin oluşturduğu iki farklı grubun fekal bakteri düzeylerini çalışarak, bu düzeylere etki edebilen metabolik parametreleri belirlemeyi amaçladık.

Obez bireylerde yapılan çalışmalarda birbirinden farklı Firmicutes ve Bacteroidetes konsantrasyonları saptanmıştır. Ancak, çalışmaların bazılarında Firmicutes/Bacteroidetes oranı yüksek (73, 118, 119); bazılarında düşük düzeylerde (120, 127) olduğu rapor edilmiştir. Örneğin, Ley ve arkadaşlarının 12 obez bireye düşük kalorili diyet verdikleri bir çalışmada, fekal DNA'daki 16S rRNA genler sekanslanarak, bağırsak mikrobiyota içeriği 1 yıldan uzun süreli monitörize edilmiş ve kilo kaybettirici diyet başlamadan önce çalışmaya alınan obez bireylerin mikrobiyota içeriklerinde, zayıf kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, daha düşük düzeylerde Bacteroidetes konsantrasyonları saptanmıştır (obezlerde %3 ve kontrollerde %25 oranında). Ayrıca, Firmicutes düzeyleri, normal kilolu bireylere göre, obez bireylerde daha yüksek oranlarda ölçülmüştür (obezlerde %89 ve kontrollerde %73 oranında). Düşük kalorili diyet sonrası ise obez bireylerdeki Bacteroidetes oranının 1 yıl içinde %3'ten %18'e yükseldiği rapor edilmiştir (7). Benzer şekilde, Zhang ve arkadaşları gastrik by-pass yapılan



obez bireylerde Firmicutes konsantrasyonlarının anlamlı düzeyde azaldığını ve Bacteroidetes düzeylerinin arttığını tespit etmiştir (23).

Ancak, yakın tarihli iki farklı çalışmada bu bulgular desteklenmemiştir (166,177). Duncan ve arkadaşları, 16S rRNA-targeted fluorescence in situ hybridization (FISH) yöntemiyle, 23 obez (VKİ>30 kg/m<sup>2</sup>) ve 14 obez olmayan (VKİ<30 kg/m<sup>2</sup>) bireyin bağırsak mikrobiyota içeriklerini karşılaştırmıştır. Obez ve obez olmayan bireyler arasında fekal Bacteroides ve Firmicutes konsantrasyonları açısından anlamlı bir fark gözlenmediği gibi VKİ ile bu bakteriler arasında da bir korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca, çalışmaya alınan obez bireylere kilo kaybı amacıyla, her biri 4 hafta süreli, düşük kalorili iki farklı diyet çarpazlama yapılarak verilmiş ve kilo kaybeden obez bireylerin fekal Bacteroides ve Firmicutes düzeylerinde bir değişiklik gözlenmemiş olup istatistiksel anlamda farklılık saptanmamıştır (166). Schwiertz ve arkadaşları ise, RT-PCR kullanarak, 30 normal kilolu (VKİ=18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup>), 35 kilolu (VKİ=25-30 kg/m<sup>2</sup>) ve 33 obez (VKİ>30 kg/m<sup>2</sup>) bireyi incelemiş ve fekal Bacteroidetes oranlarını sırasıyla %23, %47 ve %45 olarak rapor etmiştir (177).

Ley ve arkadaşlarının 16S rRNA gen sekanslaması yapması, Duncan ve arkadaşlarının larının FISH yöntemini, Schwiertz ve arkadaşlarının ise RT-PCR kullanmış olması bu farklılığın sebebi olabilir. Ayrıca her üç çalışmanın hasta profilleride birbirinden farklıdır. Bizim çalışmamızda ise obezite ve kontrol grupları kıyaslandığında obezlerde Bacteroides düzeyi yüksek iken kontrol grubunda Firmicutes düzeylerinin yüksek olduğu görüldü (Tablo-4).

Obezite ile ilişkili olan bir başka bakteri cinsi Actinobacteria filumundan Bifidobacterium'dur. Birçok çalışmada düşük Bifidobacteria konsantrasyonları kilo alımı ile korele saptanmıştır (73, 120, 127). Yine, anne sütü ile beslenen infantlarda, hazır mamalar ile beslenenlere göre, daha yüksek oranlarda Bifidobacteria düzeyleri tespit edilmiştir (178). Ancak bizim çalışmamızda obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında Bifidobacteria düzeyleri benzer olarak bulunmuştur (Tablo-8). Bu nedenle Bifidobacteri ile obezite arasındaki ilişkinin türlere spesifik olduğu düşünülebilir.

Cins düzeyinde bakıldığında geçmişte yapılan bazı çalışmalarda obezite ile ilişkilendirilen bir diğer bakteri *Prevotella*'dır. Hu ve arkadaşlarının kore ergenlerinde yapmış olduğu bir çalışmada; normal ve obez ergenlerden alınan numuneler kıyaslandığında obez ergenlerde *Prevotella* düzeyinin yüksek olduğu görülmüştür (179). Nadal ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir başka çalışmada yine obez bireylerde *Prevotella* oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir (114). Bizim çalışmamızda da literatürde ki verilere uygun olarak sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında *Prevotella* oranı obez bireylerde yüksek bulunmuştur (Tablo-8). Daha fazla katılımcının olduğu benzer çalışmalarla bu bulgular desteklendikçe, ilerleyen zamanlarda *Prevotella* düzeyinin obezitenin erken tanısında büyük bir yeri olacaktır.

Yakın tarihli çalışmalarda, *Akkermansia muciniphila*'nın da (*Verrucomicrobia* filumundan) musin tabakasının bütünlüğünü koruyarak ve inflamasyonu azaltarak obezite ve diyabet gelişiminden koruyabildiği rapor edilmiştir (72). Yine, bu bakteri ile vücut kilosu, yağ kitlesi ve obeziteyle ilişkili metabolik bozukluklar arasında birçok çalışmada negatif korelasyon gösterilmiştir (73-76). Ayrıca prebiyotik tedavisi sonrası, sağlıklı bireylerdeki mikrobiyel içeriğin %3-5'ini oluşturan *Akkermansia muciniphila* düzeylerinin yaklaşık olarak 100 kat arttığı rapor edilmiştir (152). İnsan ve hayvan çalışmalarında, *Akkermansia muciniphila* düzeylerinin vücut ağırlığı, diyabet (153) ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları (154) ile negatif yönde korele olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda literatürde ki bu verileri desteklemektedir. Çalışmamızda *Akkermansia muciniphila*'nın takımı olan *Verrucomicrobiales*'in kontrol grubunda ( $p=0,028$ ), obezite grubuna göre yüksek çıktığını görmekteyiz (Tablo-8). Ayrıca obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında *Akkermansia* düzeylerinin kontrol grubunda daha yüksek olduğunu anlaşılmaktadır. Ancak, bu bakterinin bağırsak bariyer fonksiyonları gelişimine etkisinin ortaya konması için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Cins düzeyinde bakıldığında obezite ile ilişkilendirilmiş bir diğer bakteri *Succinivibrio*'dur (*Proteobacteria* filumundan). Murugesan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada *Succinivibrio* düzeyi normal kilolularda daha fazla bulunmuştur (180). Ancak yakın tarihte yapılan başka bir çalışmada Franco De Moraes ve arkadaşları *Succinivibrio* düzeyinin obez hastalarda daha fazla olduğunu saptamıştır (181). Bizim çalışmamızda da

Succinivibrio oranının obez hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir (Tablo-8). Bütün bu çalışmalar Succinivibrio (Proteobacteria) ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu fikrini uyandırmaktadır.

Çalışmamızda kontrol grubunda obezite grubuna göre anlamlı derecede ( $p=0,016$ ) fazla bulunan bir diğer bakteri familyası Rikenellaceae'dir (Tablo-8) (Bacteroidetes filumundan). Çalışmamızın aksine Langille ve arkadaşlarının obez fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada; Rikenellaceae familyası karaciğer trigliseritleri ve adiposite ile pozitif korele bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada Rikenellaceae familyası farelerde ve insanlarda yaşlanma ile ilişkilendirilmiştir (182). Bu nedenle bu konu hakkında çok sayıda ve daha kapsamlı çalışmaya ihtiyaç duyulduğu aşikardır.

Çalışmamızda kontrol grubunda obezite grubuna göre anlamlı derecede ( $p=0,036$ ) fazla bulunan bir diğer bakteri familyası Ruminococcaceae'dir (Tablo-8) (Firmicutes filumundan). Bu konuda yapılmış bazı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklerken, bazı çalışmalar ise bizim bulgularımız ile örtüşmemektedir. Vital ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada obez bireylerde Ruminococcaceae familyasının azaldığını tespit etmişlerdir (185). Yine Palleja ve arkadaşları bariatrik cerrahi sonrası Ruminococcaceae familyasının azaldığını göstermişlerdir (186). Öte yandan Geurts ve arkadaşları obez farelerde zayıf yavrularına göre Ruminococcaceae düzeylerini fazla bulurken (183), Kim ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde Ruminococcaceae familyasının yüksek oranda görüldüğünü tespit etmişlerdir (184).

Aile düzeyinde bakıldığında göze çarpan başka bir bakteri Firmicutes filumundan Barnesiellaceae'dir. Barnesiella ve alt cinsleri hakkında yapılmış çalışmalar oldukça azdır. Chiu ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada obez hastalara göre Barnesiellaceae düzeyi kontrol grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (187). Kwon ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada insanlar dışkılama sayılarına göre sınıflandırılmış, günlük az miktarda dışkılama sayısı olan deneklerde Barnesiellaceae düzeyinin belirgin oranda fazla bulunduğu gösterilmiştir (188). Whisner ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise yurttan kalan üniversite öğrencileri beslenme şekillerine göre sınıflandırılmış, özellikle lifli gıda alımı az olan öğrencilerde Barnesiellaceae düzeyinin fazla olduğu tespit edilmiştir (189). Bizim çalışmamızda ise Barnesiellaceae düzeyi kontrol grubunda ( $p=0,029$ ) obezite grubuna

göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo-7). Bu konuyla ilgili yapılmış çalışmaların azlığı ve içeriklerinin birbirinden farklı olması, maalesef bizlerin sağlıklı fikir yürütmesine engel olmaktadır. Barnesiellaceae hakkında daha kaliteli varsayımlar yapabilmek için şüphesiz daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan çalışmalarda dikkat çeken bir diğer bakteri ailesi Proteobacteria filumundan Desulfovibrionaceae'dir. Literatüre bakıldığında Zhang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Desulfovibrionaceae ailesi, endotoksin üreten aile olarak nitelendirilmiştir. Bu çalışmada yüksek kalorili diyet ile beslenen ve metabolik sendrom fenotipine sahip farelerde Desulfovibrionaceae ailesinde artış görülmüştür (123). Ancak bizim yaptığımız çalışmada literatürde olan bilgilerin aksine Desulfovibrionaceae ailesi kontrol grubunda ( $p=0,032$ ) obezite grubuna göre yüksek düzeyde bulunmuştur (Tablo-7). Şahsi kanaatimiz bu farklılığın nedeni bizim yaptığımız çalışmanın az sayıda örneklem içermesi olabilir.

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda süksinat tüketicisi olarak nitelendirilen, obezite ve süksinat düzeyleri arasında korelasyon kurulmaya çalışılan bir diğer bakteri familyası Odoribacteraceae'dir. Bu bakteri Bacteroidetes filumundan köken almaktadır. Watanabe ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada obez bireylerde düşük düzeyde bulunmuştur (190). Bizim yaptığımız çalışmada da obezite grubunda kontrol grubuna göre ( $p=0,036$ ) düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir (Tablo-7). Belkide bu konu üzerinde yapılan çalışmaların sayısı artırıldığında süksinat düzeyleri ve obezite arasında bir korelasyon kurulabilecek ve bu durum erken tanı amaçlı kullanılabilir.

Çalışmamızda probiyotik alımını sık yapanlarla ara sıra yapanlar arasında yapılan karşılaştırmada sık kullananlarda anlamlı derecede ( $p=0,018$ ) fazla bulunan bir diğer bakteri familyası Peptococcaceae'dir (Grafik-15) (Firmicutes filumundan). Nitekim yakın zamanda yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tsai ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada insanlarda probiyotik müdahale sonrası Peptococcaceae yükünün arttığı tespit edilmiştir (192). Yine Clarke ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada probiyotik kullanımı sonrası Peptococcaceae miktarında anlamlı derece artış görülmüştür (191).

Çalışmamızda kontrol ve obez grubunun tamamına bakıldığında anlamlı bulunan bir başka veri ise çalışmaya katılan erkeklerle kıyaslandığında kadınlarda üç farklı cins ve bir adet aile sınıfında bakterinin yüksek bulunmasıdır (Grafik-14). Bunlar sırasıyla Prevotella cinsi ( $p=0,012$ ), Oscillospira cinsi ( $p=0,028$ ), Clostridium cinsi ( $p=0,047$ ) ve Ruminococcaceae ailesi ( $p=0,025$ )'dir. Literatür taramalarında bu konuyla ilgili çok fazla bilgi elde edilememektedir. Daha fazla bireyin katıldığı ve özellikle farklı cinsiyetteki katılımcılardan elde edilen bilgilerin kıyaslandığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hayvan çalışmalarını ayrı tutacak olursak, literatürdeki çelişkili sonuçların muhtemel nedenlerinden biri insan çalışmalarında çevresel faktörlerin (gıda tüketimi, fiziksel aktivite, hijyen, stres vb.) standardize edilebilmesindeki güçlülüdür. Ayrıca kullanılan farklı mikrobiyolojik yöntemler veya bakterilerin tür düzeyindeki kantitatif ve fonksiyonel değişiklikleri de farklı sonuçlara neden olabilmektedir. Olgularımızın bağırsak mikrobiyotasını etkileyen ilaç kullanımları, sigara ve alkol kullanımları sınırlandırılmış olmasına rağmen, beslenme alışkanlıklarındaki ve yaşam tarzlarındaki farklılıklar bu sonuçlara neden olmuş olabilir.

Bu nedenle, daha iyi standardize edilmiş, prospektif, randomize ve kontrollü sonlanım çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. KISITLILIKLAR

Hayvan çalışmalarını ayrı tutacak olursak, literatürdeki çelişkili sonuçların muhtemel nedenlerinden biri insan çalışmalarında çevresel faktörlerin (gıda tüketimi, fiziksel aktivite, hijyen, stres vb.) standardize edilebilmesindeki güçlüktür. Ayrıca kullanılan farklı mikrobiyolojik yöntemler veya bakterilerin tür düzeyindeki kantitatif ve fonksiyonel değişiklikleri de farklı sonuçlara neden olabilmektedir. Olgularımızın bağırsak mikrobiyotasını etkileyen ilaç kullanımları, sigara ve alkol kullanımları sınırlandırılmış olmasına rağmen, beslenme alışkanlıklarındaki ve yaşam tarzlarındaki farklılıklar bu sonuçlara neden olmuş olabilir. İnsanlara nasıl besleniyorsunuz şeklinde sorulduğunda kişiler maalesef objektif cevaplar verememektedir, cevaplar daha çok göreceli olmaktadır.

Bu nedenle, daha iyi standardize edilmiş, prospektif, randomize ve kontrollü sonlanım çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda bütçemizin kısıtlı olması ve bu nedenle örneklem sayımızın az tutulması bizim kısıtlılığımızdı. Mikrobiyota konusunda örneklem sayısının artırılması ve bu konuda daha yüksek bütçelerle benzer çalışmalar yapılmasının daha spesifik sonuçlar doğuracağı kanaatindeyiz.

## 7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamıza toplam 14 obezite hastası ve 12 sağlıklı kontrol grubu hastası dahil edilmiştir. Obezite ( $44,35 \pm 7,54$ ) ve kontrol grubundaki bireylerin ( $43,75 \pm 5,44$ ) yaş ortalaması birbirine benzerdir ( $p=0,819$ ). Çalışmaya dahil edilen hastaların %50'si erkek, %50'si kadındır. Kontrol grubunda ise erkek oranı %41,6 iken kadın oranı %58,3'tür. Cinsiyet bakımından gruplar arasında bir fark bulunmamaktadır ( $p=0,971$ ). Çalışmamıza katılan bireylerin ağırlık ( $p=0,001$ ), bel çevresi ( $p=0,001$ ) ve VKİ ( $p=0,001$ ) parametreleri anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda cins düzeyinde bakıldığında fekal bakteriyel örneklerin toplamda %25,4 Bacteroides, %3,1 Parabacteroides, %44,6 Prevotella, %3,7 Prevotella (Paraprevotellacea ailesinden), %2,2 Succinivibrio'dan oluştuğunu görmekteyiz. Obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise Bacteroides'in kontrol grubunda (%29,1) obezite grubuna (%21,7) göre yüksek olduğu, Parabacteroides'in kontrol grubunda (%4,2) obezite grubuna (%2) göre yüksek olduğu, Prevotella'nın obezite grubunda (%53,6) kontrol grubuna (%35,7) göre yüksek olduğu, Succinivibrio'nun obezite grubunda (%3,6) kontrol grubuna (%0,8) göre yüksek olduğu ve Akermansia cinsi kontrol grubunda (%0,3) bulunurken obezite grubunda görülmediği anlaşılmaktadır. Ayrıca yine obezite ve kontrol grupları arasında olguların fekal bakteriyel konsantrasyonları karşılaştırıldığında Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinde anlamlı derecede farklılık saptandı. Rikenellaceae ve Ruminococcaceae düzeylerinin her ikisinde sırayla  $p=0,016$  ve  $p=0,036$  değerleriyle kontrol grubunda fazla olduğu görülmüştür.

Son yıllarda, bağırsak mikrobiyotasındaki orantısal değişikliklerin obezite gibi bazı metabolik hastalıkların gelişimi ile ilişkili olduğu iddia edilmektedir. Bizim çalışmamızda da, obez bireylerdeki fekal bakteriyel konsantrasyonların sağlıklı kontrollerden farklı saptanması bu durumu desteklemektedir. Bağırsak mikrobiyotasındaki kantitatif değişiklikler obezitenin erken evrelerinden itibaren gözlenebilmektedir. Bu durum, metabolik hastalık risklerinin belirlenmesinde mikrobiyotanın bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Böylece, bağırsak mikrobiyotasının modifikasyonu ile obezite ortaya çıkmadan engellenebilecek veya geciktirilebilecektir.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, devam edecek çalışmalarda bu hasta grubundaki farklı probiyotik yaklaşımlarına ve fekal transplantasyon tedavilerine yol gösterebilecektir. İntestinal mikrobiyotanın etkileri ve önemi anlaşıldıkça mikrobiyota manipülasyonunun ve özellikle de Fekal Transplantasyonun bir tedavi modeli olarak kullanılabilirliği gün geçtikçe kabul görmektedir. Tüm bu çalışmalar göstermektedir ki yakın bir gelecekte mikrobiyota bir belirteç olarak tanıda veya ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı bir tedavi yöntemi olarak tedavide kullanılabilir olacaktır.

Farkındalık oluşturmak adına probiyotik gıdaların üzerine bağırsak mikrobiyotasına olan faydalarını belirten ifadelere yer verilmeli ve insanlar bu konuda bilinçlendirilmelidir.



## 9. KAYNAKLAR

1. World Health Organization- Obesity and overweight- Fact sheet N°311- Updated October 2017 [[http:// www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/)]. (ET:20.09.2018)
2. Türkiye İstatistik Kurumu, Türkiye Sağlık Araştırması 2015;58 [<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.doid=18854>]. (ET:20.09.2018)
3. Türkiye Halk Sağlığı-Obezite, Diyabet ve Metabolik Hastalıklar Daire Başkanlığı. [<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/obezite/obezitenin-yol-actigi-saglik-problemleri.html>]. (ET:20.09.2018)
4. Kahn, S.E., Hull, R.L., Utzschneider, K.M., Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes, *Nature*, 444 (7121), 840–6, 2006.
5. Backhed, F., Ding, H., Wang, T., et al., The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101 (44), 15718–23, 2004.
6. Ley, R.E., Backhed, F., Turnbaugh, P., et al., Obesity alters gut microbial ecology, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 11070–75, 2005.
7. Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., et al., Human gut microbes associated with obesity, *Nature*, 444, 1022–23, 2006.
8. Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., et al., An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest, *Nature*, 444 (7122), 1027–31, 2006.
9. Claus, S.P., Tsang, T.M., Wang, Y., et al., Systemic multicompartmental effects of the gut microbiome on mouse metabolic phenotypes, *Mol. Syst. Biol.*, 4, 219, 2008.
10. Martin, F.P., Dumas, M.E., Wang, Y., et al., A top–down systems biology view of microbiome–mammalian metabolic interactions in a mouse model, *Mol. Syst. Biol.*, 3, 112, 2007.
11. Velagapudi, V.R., Hezaveh, R., Reigstad, C.S., et al., The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice, *J. Lipid Res*, 51 (5), 1101– 12, 2010.
12. Wikoff, W.R., Anfora, A.T., Liu, J., Schultz, P.G., et al., Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 (10), 3698–703, 2009.
13. Suhre, K., Meisinger, C., Doring, A., et al., Metabolic footprint of diabetes: a multi-platform metabolomics study in an epidemiological setting. *PLoS One*, 5 (11), e13953, 2010.

14. Li, M., Wang, B., Zhang, M., et al., Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105 (6), 2117–22, 2008.
15. Zhao, L., Genomics: the tale of our other genome, *Nature*, 465 (7300), 879–80, 2010.
16. Zhao, L., Shen, J., Whole-body systems approaches for gut microbiota-targeted, preventive healthcare, *J. Biotechnol.*, 149 (3), 183–90, 2010.
17. Lederberg, J., Infectious history, *Science*, 288 (5464), 287–93, 2000.
18. Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., et al. Enterotypes of the human gut microbiome, *Nature*, 473 (7346), 174–80, 2011.
19. Qin, J., Li, R., Raes, J., et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing, *Nature*, 464 (7285), 59–65, 2010.
20. Gill, S.R., Pop, M., Deboy, R.T., et al., Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome, *Science*, 312 (5778), 1355–59, 2006.
21. Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., et al., Diversity of the human intestinal microbial flora, *Science*, 308 (5728), 1635–38, 2005.
22. Lozupone, C.A., Stombaugh, J.I., Gordon, J.I., Jansson, J.K., Knight, R., Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota, *Nature*, 489 (7415), 220–30, 2012.
23. Zhang, H., DiBaise, J.K., Zuccolo, A., et al., Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 (7), 2365–70, 2009.
24. Backhed, F., Manchester, J.K., Semenkovich, C.F., et al., Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104 (3), 979–84, 2007.
25. Lin, H.V., Frassetto, A., Kowalik Jr., et al., Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms, *PLoS ONE*, 7 (4), e35240, 2012.
26. Samuel, B.S., Gordon, J.I., A humanized gnotobiotic mouse model of host- archaeal-bacterial mutualism, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103 (26), 10011–16, 2006.
27. Keeney, K.M. & Finlay, B.B., Enteric pathogen exploitation of the microbiota-generated nutrient environment of the gut, *Curr. Opin. Microbiol.*, 14, 92–98, 2011.
28. Fukuda, S., Toh, H., Hase, K., et al., Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate, *Nature*, 469, 543–7, 2011.

29. Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., et al., From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate, *Nutr. Res. Rev.*, 23, 366–84, 2010.
30. Conterno, L., Fava, F., Viola, R., et al., Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? *Genes Nutr.*, 6, 241–60, 2011.
31. Archer, B.J., Johnson, S.K., Devereux, H.M., et al., Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men, *Br. J. Nutr.*, 91 (4), 591–9, 2004.
32. Cani, P.D., Dewever, C., Delzenne, N.M., Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats, *Br. J. Nutr.*, 92 (3), 521–6, 2004.
33. Cani, P.D., Daubioul, C.A., Reusens, B., et al., Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1(7–36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats, *J. Endocrinol.*, 185 (3), 457–65, 2005.
34. Cani, P.D., Knauf, C., Iglesias, M.A., et al., Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor, *Diabetes*, 55 (5), 1484–90, 2006.
35. Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Fava, F., et al., Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia, *Diabetologia*, 50 (11), 2374–83, 2007.
36. Cani, P.D., Lecourt, E., Dewulf, E.M., et al., Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal, *Am. J. Clin. Nutr.*, 90 (5), 1236–43, 2009.
37. Cani, P.D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., et al., Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability, *Gut*, 58 (8), 1091–103, 2009.
38. Delzenne, N.M., Cani, P.D., Daubioul, C., et al., Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides, *Br. J. Nutr.*, 93 (Suppl. 1), s.157–61, 2005.
39. Tarini, J., Wolever, T.M., The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 35 (1), 9–16, 2010.
40. Whelan, K., Efthymiou, L., Judd, P.A., et al., Appetite during consumption of enteral formula as a sole source of nutrition: the effect of supplementing pea-fibre and fructo-oligosaccharides, *Br. J. Nutr.*, 96 (2), 350–6, 2006.

41. Delzenne, N., Blundell, J., Brouns, F., et al., Gastrointestinal targets of appetite regulation in humans, *Obes. Rev.*, 11 (3), 234–50, 2010.
42. Neary, M.T., Batterham, R.L., Gut hormones: implications for the treatment of obesity, *Pharmacol. Ther.*, 124 (1), 44–56, 2009.
43. Alvarez-Castro, P., Pena, L., Cordido, F., Ghrelin in obesity, physiological and pharmacological considerations, *Mini Rev. Med. Chem.*, 13 (4), 541–52, 2012.
44. Cherbut, C., Ferrier, L., Roze, C., et al., Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat, *Am. J. Physiol.*, 275 (6 Pt 1), G1415–22, 1998.
45. Cuche, G., Cuber, J.C., Malbert, C.H., Ileal short-chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 279 (5), G925–30, 2000.
46. Kondo, T., Kishi, M., Fushimi, T., et al., Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation, *J. Agric. Food Chem.*, 57 (13), 5982–6, 2009.
47. Yamashita, H., Fujisawa, K., Ito, E., et al., Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71 (5), 1236–43, 2007.
48. Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., et al., Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice, *Diabetes*, 58 (7), 1509–17, 2009.
49. Arora, T., Sharma, R., Frost, G., Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor? *Appetite*, 56 (2), 511–5, 2011.
50. Soliman, M.M., Ahmed, M.M., Salah-Eldin, A.E., et al., Butyrate regulates leptin expression through different signaling pathways in adipocytes, *J. Vet. Sci.*, 12 (4), 319–23, 2011.
51. Brown, A.J., Goldsworthy, S.M., Barnes, A.A., et al., The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids, *J. Biol. Chem.*, 278 (13), 11312–9, 2003.
52. Le Poul, E., Loison, C., Struyf, S., et al., Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation, *J. Biol. Chem.*, 278 (28), 25481–9, 2003.

53. Xiong, Y., Miyamoto, N., Shibata, K., et al., Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 1045–50, 2004.
54. Tazoe, H., Otomo, Y., Kaji, I., et al., Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions, *J. Physiol. Pharmacol.*, 59 (Suppl 2), 251– 262, 2003. Kumar, H., Kawai, T., Akira, S., Pathogen recognition by the innate immune system, *Int. Rev. Immunol.*, 30 (1), 16–34, 2011.
55. Cerf-Bensussan, N., Gaboriau-Routhiau, V., The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat. Rev. Immunol.*, 10 (10), 735–44, 2010.
56. Rhee, S.H., Basic and translational understandings of microbial recognition by toll-like receptors in the intestine, *J. Neurogastroenterol. Motil.*, 17 (1), 28–34, 2011.
57. Lumeng, C.N., Saltiel, A.R., Inflammatory links between obesity and metabolic disease, *J. Clin. Invest.*, 121 (6), 2111–17, 2011.
58. Shoelson, S.E., Goldfine, A.B., Getting away from glucose: fanning the flames of obesity-induced inflammation, *Nat. Med.*, 15 (4), 373–4, 2009.
59. Yang, J.Y., Kweon, M.N., The gut microbiota: a key regulator of metabolic diseases. *BMB reports* 2016 ;49(10): 536.
60. Sayin, S.I., Wahlstrom, A., Felin, J., et al., Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab* 2013; 17:225-35
61. Swann, J.R., Want, E.J., Geier, F.M., et al., Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 1:4523-30
62. Sato, H., Genet, C., Strehle, A., et al., Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 362: 793-8
63. Thomas, C., Gioiello, A., Noriega, L., et al., TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab* 2009;10(3):167–77.
64. Cani, Patrice D., Amandine, E., Thibaut D., Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Current opinion in pharmacology* 2013;13(6):935-40.
65. Han, J.L., Lin, H.L., Intestinal microbiota and type 2 diabetes: from mechanism insights to therapeutic perspective. *World journal of gastroenterology: WJG* 2014;20(47):17737.

66. Cani, P.D., Knauf, C., Iglesias, M.A., et al., Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. *Diabetes* 2006;55: 1484-90.
67. Baggio, L.L., Daniel, J.D., Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007;132(6):2131-57.
68. Grandt, D., Schmiczek, M., Beglinger, C., et al., Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1–36 and PYY 3–36. *Regulatory peptides* 1994;51(2):151-9.
69. Amar, J., Chabo, C., Waget, A., et al., Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment, *EMBO Mol. Med.*, 3 (9), 559–72, 2011.
70. Amar, J., Serino, M., Lange, C., et al., Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept, *Diabetologia*, 54 (12), 3055–61, 2011.
71. Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., et al., Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat die-induced obesity and diabetes in mice, *Diabetes*, 57 (6), 1470–81, 2008.
72. Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., et al., Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 9066–71, 2013.
73. Santacruz, A., Collado, M.C., Garcia-Valdes, L., et al., Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women, *Br. J. Nutr.*, 104 (1), 83–92, 2010.
74. Karlsson, C.L., Onnerfalt, J., Xu, J., et al., The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight, *Obesity*, (Silver Spring) 20: 2257–61, 2012.
75. Everard, A., Lazarevic, V., Derrien, M., et al., Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice, *Diabetes*, 60, 2775–86, 2011.
76. Liou, A.P., Paziuk, M., Luevano, J.M., et al., Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity, *Sci. Transl. Med.*, 5, 178ra41, 2013.
77. Dube, P.E., Forse, C.L., Bahrami, J., et al., The essential role of insulin-like growth factor-1 in the intestinal tropic effects of glucagon-like peptide-2 in mice, *Gastroenterology*, 131 (2), 589–605, 2006.

78. Dube, P.E., Rowland, K.J., Brubaker, P.L., Glucagon-like peptide-2 activates beta-catenin signaling in the mouse intestinal crypt: role of insulin-like growth factor-I, *Endocrinology*, 149 (1), 291–301, 2008.
79. Tsai, C.H., Hill, M., Asa, S.L., et al., Intestinal growth-promoting properties of glucagon-like peptide-2 in mice, *Am. J. Physiol.*, 273 (1 Pt 1), E77–E84, 1997.
80. Kawai, T., Akira, S., Pathogen recognition with Toll-like receptors, *Curr. Opin. Immunol.*, 17 (4), 338–44, 2005.
81. Cario, E., Barrier-protective function of intestinal epithelial Toll-like receptor 2, *Mucosal Immunol.*, 1 (Suppl. 1), S62–6, 2008.
82. Cario, E., Gerken, G., Podolsky, D.K., Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function, *Gastroenterology*, 132 (4), 1359–74, 2007.
83. Brandl, K., Plitas, G., Schnabl, B., et al., MyD88-mediated signals induce the bactericidal lectin RegIII gamma and protect mice against intestinal *Listeria monocytogenes* infection, *J. Exp. Med.*, 204 (8), 1891–1900, 2007.
84. Brandl, K., Plitas, G., Mihu, C.N., et al., Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits, *Nature*, 455 (7214), 804–7, 2008.
85. Vaishnava, S., Behrendt, C.L., Ismail, A.S., et al., Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host–microbial interface, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105 (52), 20858–63, 2008.
86. Kobayashi, K.S., Chamaillard, M., Ogura, Y., et al., Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract, *Science*, 307 (5710), 731–4, 2005.
87. Petnicki-Ocwieja, T., Hrnčir, T., Liu, Y.J., et al., Nod2 is required for the regulation of commensal microbiota in the intestine., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 (37), 15813–8, 2009.
88. Rehman, A., Sina, C., Gavrilova, O., et al., Nod2 is essential for temporal development of intestinal microbial communities, *Gut*, 60 (10), 1354–62, 2011.
89. Koyama, I., Matsunaga, T., Harada, T., et al., Alkaline phosphatases reduce toxicity of lipopolysaccharides in vivo and in vitro through dephosphorylation, *Clin. Biochem.*, 35, 455–61, 2012.
90. Bates, J.M., Akerlund, J., Mittge, E., et al., Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota, *Cell Host Microbe*, 2, 371–82, 2007.

91. Lalles, J.P., Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet, *Nutr. Rev.*, 68, 323–32, 2010.
92. Everard, A., Geurts, L., Van Roye, M., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Tetrahydro iso- alpha acids from hops improve glucose homeostasis and reduce body weight gain and metabolic endotoxemia in high-fat diet-fed mice, *PLoS One*, 7, e33858, 2012.
93. McGettrick, A.F., O'Neill, L.A., Regulators of TLR4 signaling by endotoxins, *Subcell. Biochem.*, 53, 153–71, 2010.
94. Duncan, M., Davison, J.S., Sharkey, K.A., Review article: endocannabinoids and their receptors in the enteric nervous system, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 22 (8), 667–83, 2005.
95. Di Marzo, V., Goparaju, S.K., Wang, L., et al., Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake, *Nature*, 410 (6830), 822–5, 2001.
96. Maccarrone, M., Gasperi, V., Catani, M.V., et al., The endocannabinoid system and its relevance for nutrition, *Annu. Rev. Nutr.*, 30, 423–40, 2010.
97. Muccioli, G.G., Naslain, D., Backhed, F., et al., The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis, *Mol. Syst. Biol.*, 6, 392, 2010.
98. Bluher, M., Engeli, S., Klöting, N., et al., Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity, *Diabetes*, 55, 3053–60, 2006.
99. Zoppi, S., Madrigal, J.L., Perez-Nievas, B.G., et al., Endogenous cannabinoid system regulates intestinal barrier function in vivo through cannabinoid type 1 receptor activation, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 302 (5), G565–71, 2012.
100. Gustafson, B., Gogg, S., Hedjazifar, S., et al., Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 297 (5), E999–E1003, 2009.
101. Cote, M., Matias, I., Lemieux, I., et al., Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men, *Int. J. Obes. (Lond.)*, 31 (4), 692–9, 2007.
102. Engeli, S., Bohnke, J., Feldpausch, M., et al., Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity, *Diabetes*, 54 (10), 2838–43, 2005.
103. DeLeve, L.D., Wang, X., Kanel, G.C., et al., Prevention of hepatic fibrosis in a murine model of metabolic syndrome with nonalcoholic steatohepatitis, *Am. J. Pathol.*, 173 (4), 993–1001, 2008.



104. Gary-Bobo, M., Elachouri, G., Gallas, J.F., et al., reduces obesity-associated hepatic steatosis and features of metabolic syndrome in obese Zucker fa/fa rats, *Hepatology*, 46 (1), 122–9, 2007.
105. Osei-Hyiaman, D., Liu, J., Zhou, L., et al., Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice, *J. Clin. Invest.*, 118 (9), 3160–9, 2008.
106. Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.K., Contreras, M., et al., Delivery mode shapes the Acquisition and structure of the initial microbiotaa cross multiple body Habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:11971-5.
107. Rondanelli, M., Giacosa, A., Faliva, M.A., et al., Review on microbiota and effectiveness of probiotics use in older. *World J Clin Cases* 2015; 16: 156-62.
108. Ramirez-Farias, C., Slezak, K., Fuller, Z., et al., Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. *Br J Nutr* 2009; 101:541-50.
109. Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., et al., Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56: 1761-72
110. De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., et al., Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 14691 –6.
111. Ottman, N., Smidt, H., de Vos, W.M., et al., The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol* 2012;9: 104
112. Matamoros, S., Gras-Leguen, C., Le Vacon, F., et al., Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 2013; 21: 167-73.
113. Blandino, G., Inturri, R., Lazzara, F., et al., Impact of gut microbiota on diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism* 2016;42: 303-15.
114. Nadal, I., Santacruz, A., Marcos, A., et al., Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes* 2009; 33: 758-67
115. Turnbaugh, P.J., Backhed, F., Fulton, L., et al., Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe* 2008; 3: 213-23.
116. Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., et al., Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444:1009-10.

117. Turnbaugh, P.J., Hamady, M., Yatsunencko, T., et al., A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457:480-4.
118. Armougom, F., Henry, M., Vialettes, B., et al., Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and methanogens in anorexic patients. *PLoS One* 2009; 4: e7125.
119. Million, M., Maraninchi, M., Henry, M., et al., Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *Int J Obes* 2012;36:817-25
120. Collado, M.C., Isolauri, E., Laitinen, K., et al., Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women, *Am. J. Clin. Nutr.*, 88 (4), 894–9, 2008.
121. Balamurugan, R., George, G., Kabeerdoss, J., et al., Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children, *Br. J. Nutr.*, 103 (3), 335–8, 2010.
122. Furet, J.P., Kong, L.C., Tap, J., et al., Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers, *Diabetes*, 59 (12), 3049–57, 2010.
123. Zhang, C., Zhang, M., Wang, S., et al., Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice, *ISME J.*, 4 (2), 232–41, 2010.
124. Zhang, C., Zhang, M., Pang, X., et al., Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations, *ISME J.*, 6 (10), 1848–57, 2012.
125. Kalliomaki, M., Collado, M.C., Salminen, S., et al., Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight, *Am. J. Clin. Nutr.*, 87 (3), 534–8, 2008.
126. Fei, N., Zhao, L., An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice, *The ISME Journal*. Fioramonti, J., Theodorou, V., Bueno, L., Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 17 (5), 711–24, 2003.
127. Santacruz, A., Marcos, A., Warnberg, J., et al., Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents, *Obesity (Silver Spring)*, 17 (10), 1906–15, 2009.
128. Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., et al., *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105 (43), 16731–6, 2008.

129. Waldram, A., Holmes, E., Wang, Y., et al., Top-down systems biology modeling of host metabotype-microbiome associations in obese rodents, *J. Proteome Res.*, 8 (5), 2361–2375, 2009.
130. Fleissner, C.K., Huebel, N., Abd El-Bary, M.M., et al., Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity, *Br. J. Nutr.*, 104 (6), 919–29, 2010.
131. Barnes, S.L., Vidrich, A., Wang, M.L., et al., Resistin-like molecule beta (RELMbeta/FIZZ2) is highly expressed in the ileum of SAMP1/YitFc mice and is associated with initiation of ileitis, *J. Immunol.*, 179 (10), 7012–20, 2007.
132. Hildebrandt, M.A., Hoffmann, C., Sherrill-Mix, S.A., et al., High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity, *Gastroenterology*, 137 (5), 1716–24, 1711–12, 2009.
133. De La Serre, C.B., Ellis, C.L., Lee, J., et al., Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 299 (2), G440–8, 2010.
134. Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome, *Gastroenterology*, 143 (4), 913–6, e917, 2012.
135. Ewaschuk, J., Endersby, R., Thiel, D., et al., Probiotic bacteria prevent hepatic damage and maintain colonic barrier function in a mouse model of sepsis, *Hepatology*, 46 (3), 841–850, 2007.
136. Guarner, F., Studies with inulin-type fructans on intestinal infections, permeability, and inflammation, *J. Nutr.*, 137 (11 Suppl.), 2568S–71S, 2007.
137. Moreira, A.P., Texeira, T.F., Ferreira, A.B., et al., Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia, *Br. J. Nutr.*, 108 (5), 801–9, 2012.
138. Lakhan, S.E., Kirchgessner, A., Gut microbiota and sirtuins in obesity-related inflammation and bowel dysfunction, *J. Transl. Med.*, 9, 202, 2011.
139. Lee, H.Y., Park, J.H., Seok, S.H., et al., Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and Show anti-obesity effects in diet-induced obese mice, *Biochim. Biophys. Acta*, 1761 (7), 736–44, 2006.
140. Yin, Y.N., Yu, Q.F., Fu, N., et al., Effects of four Bifidobacteria on obesity in high-fat diet induced rats, *World J. Gastroenterol.*, 16 (27), 3394–3401, 2010.

141. An, H.M., Park, S.Y., Lee do, K., et al., Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats, *Lipids Health Dis.*, 10, 116, 2011.
142. Raoult, D., Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 27 (8), 631–4, 2008.
143. Kadooka, Y., Sato, M., Imaizumi, K., et al., Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 64 (6), 636–43, 2010.
144. Luoto, R., Kalliomaki, M., Laitinen, K., et al., The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years, *Int. J. Obes. (Lond.)*, 34 (10), 1531–7, 2010.
145. Grzeskowiak, L., Gronlund, M.M., Beckmann, C., et al., The impact of perinatal probiotic intervention on gut microbiota: double-blind placebo-controlled trials in Finland and Germany, *Anaerobe*, 18, 7–13, 2012.
146. Martin, R., Langa, S., Reviriego, C. et al., Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut, *J. Pediatr.*, 143, 754–758, 2003.
147. Solis, G., de Los Reyes-Gavilan, C.G., Fernandez, N., et al., Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut, *Anaerobe*, 16, 307–10, 2010.
148. Jacobsen, C.N., Rosenfeldt Nielsen, V., Hayford, A.E., et al., Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4949–56, 1999.
149. Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., et al., Prebiotic effects: metabolic and health benefits, *Br. J. Nutr.*, 104 (Suppl 2), S1–S63, 2010.
150. Parnell, J.A., Reimer, R.A., Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults, *Am. J. Clin. Nutr.*, 89 (6), 1751–9, 2009.
151. Martin, F.P., Sprenger, N., Yap, I.K., et al., Panorganismal gut microbiome host metabolic crosstalk, *J. Proteome Res.*, 8, 2090–2105, 2009.
152. Derrien, M., Vaughan, E.E., Plugge, C.M., et al., *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 1469–76, 2004.

153. Hansen, C.H., Krych, L., Nielsen, D.S., et al., Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansia muciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD Mouse, *Diabetologia*, 55, 2285–94, 2012.
154. Png, C.W., Linden, S.K., Gilshenan, K.S., et al., Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria, *Am. J. Gastroenterol.*, 105, 2420–8, 2010.
155. Genta, S., Cabrera, W., Habib, N., et al., Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans, *Clin. Nutr.*, 28 (2), 182–187, 2009.
156. Lecerf, J.M., Depeint, F., Clerc, E., et al., Xylo-oligosaccharide (XOS) in combination with inulin modulates both the intestinal environment and immune status in healthy subjects, while XOS alone only shows prebiotic properties, *Br. J. Nutr.*, 108, 1847–58, 2012.
157. Bartosch, S., Fite, A., Macfarlane, G.T., et al., Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota, *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 3575–3581, 2004.
158. Palmer, C., Bik, E.M., DiGiulio, D.B., et al., Development of the human infant intestinal microbiota, *PLoS Biol.*, 5, e177, 2007.
159. Sekirov, I., Tam, N.M., Jogova, M., et al., Antibiotic-induced perturbations of the intestinal microbiota alter host susceptibility to enteric infection, *Infect. Immun.*, 76, 4726–36, 2008.
160. Robinson, C.J., Young, V.B., Antibiotic administration alters the community structure of the gastrointestinal microbiota, *Gut Microbes*, 1, 279–84, 2010.
161. Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., et al Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity, *Nature*, 488, 621–6, 2012.
162. Dumonceaux, T.J., Hill, J.E., Hemmingsen, S.M., et al., Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken, *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 2815–23, 2006.
163. Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L., et al., The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing, *PLoS Biol.*, 6, e280, 2008.
164. Dethlefsen, L., Relman, D.A., Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108 (suppl 1), 4554–61, 2011.

165. Moore, P.R., Evenson, A., Luckey T.D., et al., Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J Biol Chem* 165: 437–41, 1946.
166. Stokstad, E.L., Jukes, T.H., Pierce J., et al., The multiple nature of the animal protein factor, *J. Biol. Chem.*, 180, 647–54, 1949.
167. Cromwell, G.L., Why and how antibiotics are used in swine production, *Anim. Biotechnol.*, 13, 7–27, 2002.
168. Food and Drug Administration. Withdrawal of Notices of Opportunity for a Hearing; Penicillin and Tetracycline Used in Animal Feed, *Federal Register* [Internet], 76 (246), 2011. (ET:20.09.2018)
169. Haight, T.H., Pierce, W.E., Effect of prolonged antibiotic administration on the weight of healthy young males, *J. Nutr.*, 56, 151–61, 1955.
170. Ozawa, E., Studies on growth promotion by antibiotics. II. Results of aureofac administration to infants, *J. Antibiot. (Tokyo)*, 8, 212–14, 1955.
171. Perrini, F., Aureomycin as a growth factor in premature infants, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 27, 1151–2, 1951.
172. Raoult, D., Human microbiome: take-home lesson on growth promoters? *Nature*, 454, 690–1, 2008.
173. Ternak, G., Antibiotics may act as growth/obesity promoters in humans as an inadvertent result of antibiotic pollution? *Med. Hypotheses*, 64, 14–6, 2005.
174. Trasande, L., Blustein, J., Liu, M., et al., Infant antibiotic exposures and early-life body mass, *Int. J. Obes. (Lond)*, 37, 16–23, 2013.
175. Southern, K.W., Barker, P.M., Solis-Moya, A., et al., Macrolide antibiotics for cystic fibrosis, *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD002203, 2011.
176. Garly, M.L., Bale, C., Martins, C.L. et al., Prophylactic antibiotics to prevent pneumonia and other complications after measles: community based randomised double blind placebo controlled trial in Guinea-Bissau, *BMJ*, 333, 1245–7, 2006.
177. Schwartz, A., Taras, D., Schafer, K., et al., Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects, *Obesity (Silver Spring)*, 18 (1), 190–5, 2010.
178. Kallus, S.J., Brandt, L.J., The intestinal microbiota and obesity, *J. Clin. Gastroenterol.*, 46, 16–24, 2012.
179. Hu, H.-J., Park, S.-G., Jang, H. B., et al., Obesity alters the microbial community profile in Korean adolescents. *PLoS One*. 2015;10(7, article e0134333)

180. Murugesan, S., Ulloa-Martinez, M., Martinez-Rojano, H., et al., *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 34 (2015), pp. 1337-46
181. Franco-De-Moraes, A.C., De Almeida-Pititto, B., Da Rocha Fernandes, G., et al., Worse inflammatory profile in omnivores than in vegetarians associates with the gut microbiota composition. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2017;9: 1–8. doi: 10.1186/s13098-017-0261-x.
182. Langille, M.G., Meehan, C.J., Koenig, J.E., et al., Microbial shifts in the aging mouse gut. *Microbiome*. 2014;2(1):50.
183. Geurts, L., Lazarevic, V., Derrien, M., et al., Altered gut microbiota and endocannabinoid system tone in obese and diabetic leptin-resistant mice: impact on apelin regulation in adipose tissue, *Front Microbiol*, 2011, vol. 2 pg. 149
184. Kim, K.A., Gu, W., Lee, I.A., et al., High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway, *PLoS One*, 2012, vol. 7 pg. e47713
185. Vital, M., Howe, A.C., Tiedje, J.M., Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *M Bio*. 2014;5: e00889.
186. Palleja, A., Kashani, A., Allin, K.H., et al., Roux-en-Y gastric bypass surgery of morbidly obese patients induces swift and persistent changes of the individual gut microbiota. *Genome Med.* 8:672016.
187. Chiu, C.-M., Huang, W.-C., Weng, S.-L., et al., Systematic analysis of the association between gut flora and obesity through high-throughput sequencing and bioinformatics approaches. *Biomed Res. Int.* 2014
188. Kwon, H.J., Lim, J.H., Kang, D., et al., “Is stool frequency associated with the richness and community composition of gut microbiota”. *Intestinal Research* 2019; 17(3):419-26.
189. Whisner, C., Maldonado, J., Dente, B., et al., Diet, physical activity and screen time but not body mass index are associated with the gut microbiome of a diverse cohort of college students living in university housing: A cross-sectional study. *BMC Microbiology*, 2018.
190. Watanabe, Y., Nagai, F., Morotomi, M., Characterization of *Phascolarctobacterium succinatutens* sp. nov., an asaccharolytic, succinate-utilizing bacterium isolated from human feces. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78: 511–8.

191. Clarke, S. F., Murphy, E. F., O'Sullivan, O., et al., Targeting the microbiota to address diet-induced obesity: a time dependent challenge. *PLoS ONE* 8: e65790.
192. Tsai, Y.-T., Cheng, P.-C., Pan, T.-M., "Anti-obesity effects of gut microbiota are associated with lactic acid bacteria," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 98, no. 1, pp. 1–10, 2014.





## 10. ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı:** Mehmet Burak ÖZTÜRK

**Doğum Yeri:** SİVAS

**Doğum Tarihi:** 07.09.1989

**Medeni Durumu:** Evli

**Tıp Eğitimi:** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi (2007-2013)

**Uzmanlık Eğitimi:** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği

**Yabancı Dili, Sınav ve Derecesi:** İngilizce, IELTS (2014), 4.5

## 11. EKLER

### Ek-1: Etik Kurul Onayı

#### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Obez ve Sağlıklı Bireylerin Bağırsak Mikrobiyotasının Karşılaştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Yeltekin Demirel			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Aile Hekimliği			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	<input type="checkbox"/>		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yönem  
İmza:



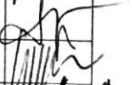

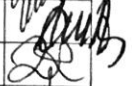
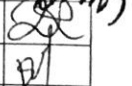
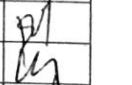


Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.


## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Obez ve Sağlıklı Bireylerin Bağırsak Mikrobiyotasının Karşılaştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	ŞİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>		
	<b>Karar No:2018-09/09</b>	<b>Tarih: 19.09.2018</b>		
<p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmış katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.</p> <p>İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.</p>				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner



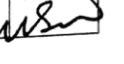
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner	Gastroenteroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik	Cumhuriyet 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"/>	
Doç. Dr. Derya Özdemir Doğan	Protetik Diş Tedavisi	Cumhuriyet 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"/>	
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet 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"/>	
Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet 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"/>	
Dr. Öğret. Üyesi Ziyet Çınar	Biyoistatistik	Cumhuriyet 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"/>	
Dr. Öğret. Üyesi Mahmut Ekici	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet 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"/>	
Dr. Öğret. Üyesi Hatice Acar Çınar	Din Psikolojisi	Cumhuriyet 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"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Hafik ASM	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"/>	

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner  
İmza: 

*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.*

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Obez ve Sağlıklı Bireylerin Bağırsak Mikrobiyotasının Karşılaştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Uzm. Dr. Mustafa Tosun	Dermatoloji	Sivas Numune Hastanesi	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"/>	
Öğr. Gör. Mehmet Sevim	Hukukçu	Cumhuriyet 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"/>	
Öğret. Mehmet Şahin	Türk Dili Edebiyat Öğretmeni	Sivas Kongre Anadolu Lisesi	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"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yönetim  
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

**Ek-2:** Cübaap Proje Destekleme Protokolü

**T.C.**  
**SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ PROJE**  
**PROTOKOLÜ**

**MADDE 1-** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi tarafından desteklenmesine karar verilen "T-829" nolu "OBEZ VE SAĞLIKLI BİREYLERİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ KARŞILAŞTIRILMASI" başlıklı projenin, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesiyle belirlenen esaslar dahilinde yürütülmesi ve sonuçlandırılması amacıyla Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Rektörü "Prof.Dr Alim YILDIZ" ile proje yürütücüsü **Prof.Dr. Yeltekin DEMİREL** arasında aşağıda belirlenen koşullarla işbu protokol imzalanmıştır.

**MADDE 2-** Proje yürütücüsü, projenin Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi ve bu protokol hükümlerinde öngörülen amaç, kapsam, süre ve diğer hususlara uygun olarak yürütülmesi ve sonuçlandırılmasından sorumludur.

**MADDE 3-** Desteklenmesi kabul edilen projenin amaç, kapsam, süre, bütçe, program, yardımcı araştırmacılar ve yapılacak her türlü değişiklikler, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun kararıyla mümkündür.

**MADDE 4-** Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında alınan demirbaşlar ilgili proje yürütücüsünün kadrosunun bağlı bulunduğu birim ayniyat kayıtlarına alınarak ilgili kullanıcıya ilgili birim tarafından zimmetlenir. İlgili demirbaşlar Projenin tamamlanmasını müteakiben Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun uygun görmesi halinde, farklı projelerde veya eğitim, öğretim ve araştırma hizmetlerinde kullanılmak üzere ilgili harcama birimine devredilir.

**MADDE 5-** Proje yürütücüsü, projenin kabulünden itibaren 6 aylık sürelerle aşağıdaki tarihlerde gelişme ve sonuç raporlarını istenilmeden teslim etmek zorundadır.

11-08-2019	<b>1. Ara Rapor</b>
11-02-2020	<b>2. Ara Rapor</b>
11-08-2020	<b>3. Ara Rapor</b>
11-02-2021	<b>Sonuç Raporu</b>

Proje yürütücüsü, Komisyonca talep edilmesi halinde proje ile ilgili ayrıntılı tüm bilgileri ve kayıtları Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna vermekle yükümlüdür. Ara Raporlarının, kabul edilebilir mazeret bildirmeksizin bu protokol ile belirlenen tarihlerde teslim edilmemesi halinde proje yürütücüsüne ödeme yapılmaz. Uyarıldığı halde süresinde **ara raporu vermeyen**, ara raporu verdiği halde Komisyon tarafından kesin şekilde reddedilen veya etik ihlali yapılan projeler iptal edilir. Projesi iptal edilen yöneticinin proje kapsamında yaptığı harcamalardan, demirbaş olarak kaydedilenlerin bedeli düşüldükten sonra geriye kalan tutarlar proje yöneticisinden yasal faizi ile tahsil edilir. Alınan demirbaşlar, proje yöneticisinin görev yaptığı birim envanterine ya da bunlara gereksinim duyacak diğer akademik bir birime devredilir. Bu durumların varlığı halinde ilgili proje yöneticisi 3(üç) yıl süreyle yeni bir proje önerisinde bulunamaz. Bu durumda ilgili proje yürütücüsü, kendisine Üniversite Hukuk Müşavirliği tarafından gönderilen tebligatı müteakip 3(üç) yıl süreyle yeni bir proje önerisinde bulunamaz.

Yeni proje önerisinde bulunamama yasağı, kişiye ayrıca tebliğ edilmeden derhal ve CÜBAP birimi tarafından re'sen uygulanır. Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen projeler Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun ve/veya bu komisyonun belirleyeceği proje izleyicileri tarafından yerinde incelenebilir; proje yürütücüsü izleyicilere istenilen her türlü belgeyi vermekle yükümlüdür.

**MADDE 6-** Proje yürütücüsü, sonuçlanan projenin tüm yönlerini ve sonuçlarını kapsayan sonuç raporunu protokol tarihinin sona ermesinden itibaren üç ay içinde Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na hazırlanmış olan "Sonuç Raporu" formatına uygun olarak Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine vermekle yükümlüdür. Lisansüstü tez projeleri için, ilgili birimlerce onaylanmış tezler de sonuç raporu olarak kabul edilebilir. Tez projeleri için sağlanacak mali destekler, ilgili lisansüstü eğitim ve öğretim mevzuatında belirlenen normal öğrenim süreleri ile sınırlıdır.

Uyarıldığı halde süresinde sonuç raporu vermeyen, sonuç raporu verdiği halde hakem tarafından kesin şekilde reddedilen veya etik ihlali yapılan projeler iptal edilir. Projesi iptal edilen yöneticinin proje kapsamında yaptığı harcamalardan, demirbaş olarak kaydedilenlerin bedeli düşüldükten sonra geriye kalan tutarlar proje yöneticisinden yasal faizi ile tahsil edilir. Alınan demirbaşlar, proje yöneticisinin görev yaptığı birim envanterine ya da bunlara gereksinim duyacak diğer akademik bir birime devredilir. Bu durumda ilgili proje yürütücüsü, kendisine Üniversite Hukuk Müşavirliği tarafından gönderilen tebligatı müteakip 3(üç) yıl süreyle yeni bir proje önerisinde bulunamaz. Yeni proje önerisinde bulunamama yasağı, kişiye ayrıca tebliğ edilmeden derhal ve CÜBAP birimi tarafından re'sen uygulanır. Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne sunulan Sonuç Raporu, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından bilimsel hakemlere (uzmanlara) inceletildikten sonra kabul edilebilir veya gerekli düzeltmelerin yapılmasını isteyebilir. Yapılan değişikliklerden sonra yeniden değerlendirmeye alınan Sonuç Raporu kabul edilir veya reddedilir.

**MADDE 7-** Bilimsel araştırma projelerinin ek süreler dâhil en çok otuz altı ay içerisinde tamamlanması esastır. A tipi Bireysel Araştırma Projelerinde azami süre bir yıldır. Projeler için gerektiği durumlarda ek süre ve ek ödenek istekleri, proje yürütücüsünün gerekçeli başvurusu üzerine, Komisyon tarafından karara bağlanabilir. Ek süre talepleri, toplam süresi otuz altı ayı geçmemesi koşuluyla 1 yıla ve ek ödenek % 50' ye kadar artırılabilir. Geçerli mazeretleri nedeniyle yürütücünün isteği doğrultusunda proje süresi BAP Komisyonunca dondurulabilir ve bu süre proje süresine dâhil edilmez. Tez projeleri için verilen süreler, yetkili birimler tarafından tezler için verilen yasal ek süreleri kapsayacak şekilde uzatılabilir. Ancak tez projeleri için sağlanacak mali destekler, ilgili lisansüstü eğitim ve öğretim mevzuatında belirlenen normal öğrenim süreleri ile sınırlıdır.

**MADDE 8-** Proje yürütücüsü, tamamlanan proje ile ilgili veri, kayıt ve dokümanları en az 10 yıl saklamak zorundadır.

**MADDE 9-** Araştırma projesi desteklenmiş proje yürütücüsü (Güdümlü, Lisansüstü Tez Projeleri ile Tamamlayıcı Destek Projeleri hariç), aşağıda yer alan esaslar dâhilinde yayın yapmak zorundadır.

a. A Tipi Bireysel Araştırma projesi, B Tipi Bireysel Araştırma Projesi ve C Tipi Araştırma

Projesi bulunan proje yürütücüsü en az, ULAKBİM tarafından taranan bir hakemli ulusal dergide veya uluslararası diğer indekslerde taranan dergilerde proje çıktıkları ile ilgili bir defa tam metin makalesi yayımlatmadan (kabul edilmiş olanlarda yayım yapılmış sayılacaktır) yeni proje önerisinde bulunamaz.

**b.** Gurup ya da Katılımlı Araştırma Projesi bulunan proje yürütücüsü, proje çıktıkları ile ilgili en az, uluslararası indekslerde taranan bir dergide bir defa basılıncaya kadar (kabul edilmiş olanlarda yayım yapılmış sayılacaktır) yeni proje önerisinde bulunamaz. Sonuçlarından patent almış projelerde ve akademik teşvik yönetmeliği çerçevesinde kitabı basılan projelerde yayım şartı aranmaz. Fikri ve Sınai Mülkiyet Hakları Destek Projesi kapsamında patent alınması ve tescili halinde ayrıca yayım şartı aranmaz. Herhangi bir yayım, proje çıktıkları ile ilgili olarak sadece tek bir projenin kapatılmasında kullanılır. Yapılan yayımların bir örneğinin Proje Yürütücüsü tarafından CÜBAP Otomasyon ve Yönetim Sistemine kaydedilerek veri tabanına eklenmesi zorunludur. CÜBAP tarafından desteklenen projeler kapsamında gerçekleştirilen her türlü yayında, makalede, yazıda, bildiride (v.b.) “Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından ..... proje numarası ile desteklenmiştir.” (“This work is supported by the Scientific Research Project Fund of Sivas Cumhuriyet University under the project number”) şeklindeki bir ibarenin bulunması zorunludur. Yayınlarında bu ifadeyi kullanmayan proje yürütücüsüne, ilgili yayımın yayımlandığı tarihten itibaren 5 (beş) yıl süreyle yeni bir proje desteği verilmez.

**MADDE 10-** Bilimsel ve tıbbi etiğe aykırılık tespit edilen projeler hakkında "**Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesinin**" 24. maddesi hükmü uygulanır

**MADDE 11-** Proje ile ilgili çalışmaların sürdürülmesinde, işyeri ve proje personeli yönünden çalışmanın gerektirdiği her türlü güvenlik önlemlerinin alınmasından proje yürütücüsü sorumludur.

**MADDE 12-** Projeden elde edilen bilimsel sonuçların telif hakkı Sivas Cumhuriyet Üniversitesine aittir.

**MADDE 13-** Bu protokol ile öngörülen toplam maddi destek miktarı ve ödeme planı Bilimsel Araştırma Projeleri ödeneklerinin nakit akışında meydana gelebilecek kısıntıların neden olacağı aksamlar mücbir sebep olarak kabul edilir ve bu nedenle taraflar sorumlu tutulamazlar.

**MADDE 14-** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi tarafından "**T-829**" nolu Projeye "**19.961,21**" TL (rakamla) "**ONDOKUZBİNDOKUZYÜZALTMİŞBİR**" TL (yazı ile) destek sağlanacaktır.

**MADDE 15-** 12-02-2019 tarihinde taraflarca imzalanan bu protokolün yürürlük süresi projenin sonuç raporunun sunulup, komisyonca kapatılması onaylanıncaya kadar yürürlüktedir. Proje yöneticisine ek süre verilmesi halinde bu protokol ek sürede de geçerli olup, ayrı bir protokol imzalanmaz.

**MADDE 16-** Bu protokolda bulunmayan hâllerde, CÜBAP yönergesi hükümleri uygulanır. Anlaşmazlık durumunda öncelikle 659 sayılı Kanun Hükmünde Kararnamenin uzlaşmaya ilişkin hükümleri çerçevesinde çözüm yoluna gidilir. Uyuşmanın sağlanmaması durumunda yetkili

merci, Sivas Mahkeme ve İcra Daireleridir.

**MADDE 17-** Bursiyer görevlendirilmesi öngörülen projelerde, Senato tarafından kabul edilen usul ve esaslarda geçen hükümler uygulanır.

**MADDE 18-** İş bu protokol; 2 (iki) adet düzenlenmiş ve imzalanmıştır.

**Prof.Dr Alim YILDIZ**  
Rektör

**Prof.Dr Ünal KILIÇ**  
CÜBAP Komisyon Başkanı

**Prof.Dr. Yeltekin DEMİREL**  
Proje Yürütücüsü





Ek-3:Turnitin Orjinallik Raporu (Kaynaklar çıkarılmış hali)

## Obez ve sağlıklı bireylerin bağırsak mikrobiyotasının karşılaştırılması

### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>9</b>	% <b>5</b>	% <b>3</b>	% <b>7</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>Submitted to TechKnowledge Turkey</b> Öğrenci Ödevi	% <b>2</b>
<b>2</b>	<b>www.diabetcemiyeti.org</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to The Scientific &amp; Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)</b> Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>dergipark.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>turkiyeparazitolojidernegi.org</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>KAYA, Tezcan, NALBANT, Ahmet, VARIM, Ceyhun and TAMER, Ali. "Hashimoto Tiroiditi Hastalarında Metabolik Sendrom, Obezite ve Menopoz İlişkisi", Sakarya Tıp Fakültesi, 2016.</b> Yayın	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>Submitted to Trakya University</b> Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>



