

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI



**SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENEN OBEZİTE
MODELİNDE BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ VE METABOLİK
ENDOTOKSEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Aliye Sağkan ÖZTÜRK

Danışman

Prof. Dr. Abdullah ARPACI

HATAY-2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENEN OBEZİTE
MODELİNDE BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ VE METABOLİK
ENDOTOKSEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Aliye Sağkan ÖZTÜRK

Danışman

Prof. Dr. Abdullah ARPACI

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından

18.D.014 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENEN OBEZİTE
MODELİNDE BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ VE METABOLİK
ENDOTOKSEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Aliye Sağkan ÖZTÜRK

Bu tez, aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 24/12/2020 günü sözlü olarak yapılan
tez savunma sınavında oy çokluğu / oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri Başkanı : Prof. Dr. Abdullah ARPACI
Üye : Prof.Dr. Nevin İLHAN
Üye : Prof.Dr. Burçin ÖZER
Üye : Prof. Dr. Necip İLHAN
Üye : Doç.Dr. Oğuzhan ÖZCAN

Bu tez, Enstitümüz Moleküler Biyokimya ve Genetik (TIP) Anabilim Dalında
hazırlanmıştır.

....../....../2020

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Küreselleşen Dünya’da insanlar günlük hayatlarında daha az hareket etmekte ve damak tadından ödün vermeden daha fazla karbonhidrat, yağ ve katkı maddesi barındıran lezzetli hazır gıdalarla beslenmeye devam etmektedir. Bu yaşam ve beslenme tarzı gastrointestinal sistemimizde yaşayan mikrobiyal toplulukta bir takım değişikliklere neden olarak yavaş ve sürekli seyreden yangısal süreci tetiklemektedir. Sonuç ise maalesef obezite ve pek çok kronik hastalıklara maruziyettir.

Yapmış olduğumuz mevcut doktora tezi okurlar için bu kronik süreç ve bu süreçte değişen bağırsak mikrobiyomu hakkında detaylı bilgiler sunmaktadır. Öncelikle çalışmayı destekleyen Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi’ne teşekkür ederim.

Bilime değerli katkıları olacağı düşünülen bu doktora tezinin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, hoşgörü ve ilgi sahibi danışmanım sayın Prof. Dr. Abdullah Arpacı’ya saygı ve şükranlarımı sunuyorum. İkinci olarak sadece tezimin her aşamasında değil tüm akademik hayatım boyunca yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen, sonsuz sabır ve hoşgörü sahibi sevgili eşim Veteriner Hekim Atakan Öztürk’e sonsuz teşekkürler.

Ayrıca laboratuvarında zaman mevhumunu hiçe sayarak yanımda olan Berna Kuş’a, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yardımlarını esirgemeyen Filiz Kaçmaz’a; doktora eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve beni yetiştiren çok değerli Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı hocalarına; hoş sohbetleri, güler yüzleri ve güzel anılar biriktirdiğim tüm lisansüstü öğrenci arkadaşlarıma;

Son olarak ise değerli aileme, evlatlarıma ve her an yanımda hissettiğim canım babacığma da teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	III
ÖNSÖZ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Obezite ve Yaygınlığı.....	2
2.2. İntestinal Mikrobiyota	4
2.3. Mukoza ve Dışkı Mikrobiyotası	9
2.4. Metabolik Endotoksemi	10
2.5. Diyet Kompozisyonu ve Obezite Modelleri.....	12
2.6. Metabolik Endotoksemi Modeli	13
2.6.1. Diyet İçeriği	13
2.6.2. Model Hayvanların Yaşı.....	14
2.7. Deney Hayvanlarında Obezitenin Fiziksel Olarak Değerlendirilmesi.....	15
3.1. Etik Kurul İzni	17
3.2. Gereç	17
3.3. Hayvan Modeli	18
3.4. Diyet	19
3.5. Kilo Kazanımları-Vücut Kondüsyon Skoru-Obezite İndeksi.....	20
3.6. Örneklerin Analizlerinin Yapılması.....	20
3.6.1. Biyokimyasal Analizler	20
3.6.2. Dışkı ve Kolon Dokusu Örneklerinin Toplanması ve Homojenizasyonu	21
3.6.3. Bradford (Coomassie Brilliant Blue) Yöntemi ile Total Protein Belirleme	21
3.6.4. Kolon Dokusunda IL-6, TNF- α , TLR-4 ve LPS Düzeylerinin Belirlenmesi	22
3.6.5. Mikrobiyota Analizi	23
3. 7. İstatistiksel Analizler.....	28
4. BULGULAR	29

4.1. Fiziksel Bulguların Değerlendirilmesi	29
4.1.1. Vücut Ağırlıkları	29
4.1.2. Nazo-anal Uzunluk.....	29
4.1.3. BMI Değişimleri	30
4.1.4. Lee Index Değişimleri	31
4.2 Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi	32
4.2.1. Açlık Kan Glukoz Düzeyleri	32
4.2.2. Tokluk Kan Glukoz Düzeyleri.....	32
4.2.3. Diğer Serum Biyokimyasal Parametrelerindeki Değişimler	33
4.2.4. Serum ve Doku Örneklerinde ELISA Analizleri	35
4.3. Dışkı ve Kolon Mikrobiyotasının Değerlendirilmesi.....	36
4.3.1. Alem Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası	36
4.3.2. Şube (Filum) Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası.....	37
4.3.3. Sınıf Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası	38
4.3.4. Takım Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası.....	39
4.3.5. Aile Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası	40
4.3.6. Cins Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası.....	42
4.3.7. Tür Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası	45
5. TARTIŞMA	51
5.1. Obezite ve Metabolik Endotoksemi	51
5.2. Metagenomik Analizler	60
5.2.1. Alem düzeyinde	60
5.2.2. Şube (Filum) Düzeyinde.....	63
5.2.3. Sınıf, Takım, Aile, Cins ve Tür Düzeyinde	67
5.2.3.1. <i>Bacteroidetes</i>	67
5.2.3.2. <i>Fibrobacteres</i>	72
5.2.3.3. <i>Proteobakteria</i>	73
5.2.3.4. <i>Aktinobakteria</i>	75
5.2.3.5. <i>Firmicutes</i>	79
6. SONUÇ.....	95
7. KAYNAKLAR.....	99
ÖZGEÇMİŞ	117

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: Yetişkin bireylerde obezitenin sınıflandırması.....	3
Çizelge 3.1: Yüksek yağlı diyet içeriğinde kullanılan hayvansal iç yağı, hayvansal protein kaynağı ve ticari yem besin içerikleri.....	19
Çizelge 3.2: Yüksek yağlı diyetin hazırlanışı	19
Çizelge 4.1: Haftalık vücut ağırlıkları değişimleri.....	29
Çizelge 4.2: Haftalık Nazo-anal uzunluklardaki değişimler	30
Çizelge 4.3: Haftalık BMI değişimleri	30
Çizelge 4.4: Haftalık Lee Index değişimleri.	31
Çizelge 4.5: 15 günlük açlık kan glukoz değişimleri	32
Çizelge 4.6: 15 günlük tokluk kan glukoz değişimleri.....	33
Çizelge 4.7: Kontrol ve deney grubu biyokimyasal analizlerin karşılaştırılması	33
Çizelge 4.8: Kontrol ve deney grubu HOMA-IR ve AI sonuçları	34
Çizelge 4.9: Doku-serum ve dışkı ELISA sonuçları	35
Çizelge 4.10: Alem seviyesinde dışkı mikrobiyotası	36
Çizelge 4.11: Alem seviyesinde kolon mikrobiyotası.	36
Çizelge 4.12: Şube (Filum) seviyesinde dışkı mikrobiyotası	37
Çizelge 4.13: Şube (Filum) seviyesinde kolon mikrobiyotası	38
Çizelge 4.14: Sınıf seviyesinde dışkı mikrobiyotası	39
Çizelge 4.15: Sınıf seviyesinde kolon mikrobiyotası.....	39
Çizelge 4.16: Takım seviyesinde dışkı mikrobiyotası.....	40
Çizelge 4.17: Takım seviyesinde kolon mikrobiyotası	40
Çizelge 4.18: Aile seviyesinde dışkı mikrobiyotası	41
Çizelge 4.19: Aile seviyesinde kolon mikrobiyotası.....	42
Çizelge 4.20: Cins seviyesinde dışkı mikrobiyotası.....	43
Çizelge 4.21: Cins seviyesinde kolon mikrobiyotası	44
Çizelge 4.22: Tür seviyesinde dışkı mikrobiyotası	46
Çizelge 4.23: Tür seviyesinde kolon mikrobiyotası.....	49

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AI:	Aterojenik indeks
ALB:	Albümin
ALP:	Alkalen fosfotaz
BMI:	Body Mass Index
BSA:	Bovine Serum Albümin
BUN:	Blood Urea Nitrogen
Ca:	Kalsiyum
CHOL:	Kolesterol
CK:	Creatin Kinaz
COVID-19:	Koronavirüs-19 Hastalığı
Cre:	Creatinin
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FFAR2 / FFAR3:	Free Fatty Acid Receptor 2/3
FOS:	Fruktooligosakkaritler
GGT:	Gama Glutamil Transferaz
GIP:	Gastrik İnhibitör Polipeptid
GLP1:	Glukagon Like Peptid-1
GPCR:	G Protein-Coupled Receptors
HDL:	High Density Lipoprotein
HFD:	High Fat Diet
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
HOMA-IR:	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
IgA:	İmmünoglobulin A
IL-6:	İnterlökin 6
IP:	İnorganik Fosfor
LBP:	LPS-Bağlayıcı Protein
LDH:	Laktat Dehidrogenaz
LPS:	Lipopolisakkarit
mCD14:	(Zar-bağlantılı Form) cluster of differentiation 14

MD2: Surface Receptor 2
ME: Metabolik Endotoksemi
NCD-RisC: Noncommunicable diseases Risk Factor Collaboration (NCD-RisC)
NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B
OD: Optik Dansite
PCR: Polymerase Chain Reaction
PYY: Peptide YY
rRNA: Ribozomal Ribo Nükleik asit
sCD14: (Çözünür Form) Cluster of Differentiation 14
SCFA: Short Chain Fatty Acids
T Bil: Total Bilürubin
T Pro: Total Protein
TEMĐ: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
Tip 1-2 DM: Tip 1-2 Diabetes Mellitus
TJP: Tight Junction Proteins
TLR4: Toll Like Reseptör
TNF-α: Tümör Nekroz Faktör-alfa
TRİG: Trigliserid
TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu
WHO: World Health Organisation

ÖZET

Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenen Obezite Modelinde Bağırsak Mikrobiyotasının ve Metabolik Endotokseminin Değerlendirilmesi

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda yüksek yağlı diyetle indüklenen obezite modelinde hem bağırsakta dışkı mikrobiyotası hem de kolon mikrobiyotasını ve metabolik endotoksemiye değerlendirmektir. Çalışmanın materyalini 14 adet wistar albino türü 6-7 haftalık erkek sıçan oluşturdu. Deney süresince yem ve suları ad libitum olarak sağlanan sıçanlar deney (7 adet) ve kontrol (7 adet) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu ticari sıçan diyeti ile (% 3 yağ, % 53 karbonhidrat ve % 23 protein) beslenirken deney grubu yüksek yağlı diyetle (hayvansal iç yağ ilavesi ile % 66,75 yağ, % 2,65 karbonhidrat ve % 22,36 protein) 12 hafta boyunca beslendi. Haftalık Lee Index ve BMI hesaplamaları ve iki haftada bir açlık ve tokluk kan glukoz düzeylerine bakıldı. Anestezi altında kalpden kan örnekleri alındı ve sıçanlar dekapite edilerek hızlı bir şekilde taze dışkı örnekleri ve distal kolon doku örnekleri alındı.

Çalışmanın sonunda vücut ağırlıkları, nazo-anal uzunluklar, HOMA-IR, albümin, IP, T Bil, Ca, CHOL, Cre, demir, GGT, LDH, lipaz ve CK ve tokluk glukoz düzeyleri için gruplar arasında farklılık yoktu. BMI ve Lee Indexleri son iki haftada deney grubunda yükselmiş ve istatistiki olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Açlık kan glukoz düzeyleri üçüncü haftadan itibaren deney grubunda yüksekti ($p<0,05$). Yine deney grubunda amilaz, TG, ALP ve AI yüksek ($p<0,01$) ve BUN, T Pro ve HDL ise düşüktü ($p<0,01$).

Serum TNF- α ve IL-6 için gruplar arasında fark yoktu. Deney grubunda TLR4 ($p<0,05$), LPS ve insülin düzeyleri yüksek, total protein ise düşüktü ($p<0,01$). Kolon dokusunda TLR4, LPS ve total protein benzer, TNF- α ve IL-6 deney grubunda yüksekti ($p<0,01$). Dışkıda ise LPS deney grubunda artmıştı ($p<0,01$).

Metagenomik analizlerde alem seviyesinde kontrol grubunun dışkı örneklerinde arkea yüzdesi yüksekti ($p<0,01$). Kolon mikrobiyotası ise benzerdi. Diğer taksonomik sınıflandırmalara göre ise dışkıda *Aktinobakteria*, *Bakterioidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobakteria*, kolon mikrobiyomunda ise *Actinobakteria*, *Bakterioidetes*, *Firmicutes* ve *Proteobakteria* filumları için gruplar arasında bazı türlerde fark belirlendi.

Ayrıca hem dışkı hem de kolonik mikrobiyomda belirlenen *Marvinbryantia formatexigens* mukozal yangı ve disbiyozisi; *Adlercreutzia equolifaciens*, *Streptococcus peroris* ve *Roseburia faecis* mukozal yangıyı; *Ruminococcus bromii* ve *Allobaculum stercoricanis* ise sağlıklı bir mikrobiyomu gösterir ve invaziv bir yöntem olan mukozal biyopsi örneklerine alternatif olarak dışkıdan da belirlenerek kolonik mikrobiyomu temsil eder.

Anahtar Kelimeler: Metabolik endotoksemi, Mikrobiyota, Obezite, Rat.

ABSTRACT

Evaluation of Intestinal Microbiota and Metabolic Endotoxemia in a High-Fat Diet-Induced Obesity Model in Rats

The aim of this study was to evaluate both feces and colonic microbiota and metabolic endotoxemia in a high-fat diet-induced obesity model in rats. The material of this study consisted of 14 wistar albino male 6-7 week old rats. During the experiment, rats whose feed and water were provided ad libitum were divided into two groups as experimental (7) and control (7). The control group was fed by a commercial rat diet (3% fat, 53% carbohydrate and 23% protein) while the experimental group was fed a high-fat diet (66.75% fat, 2.65% carbohydrate and 22.36% protein with the addition of animal tallow) fed along 12 week. Weekly Lee Index and BMI calculations and fasting and postprandial blood glucose levels were measured every two weeks. Blood samples were taken from the heart under anesthesia, and the rats were decapitated and fresh stool samples and distal colon tissue samples were taken rapidly.

At the end of the study, there was no difference between the groups for body weight, naso-anal lengths, HOMA-IR, albumin, IP, T Bil, Ca, CHOL, Cre, iron, GGT, LDH, lipase and CK, and postprandial glucose levels. BMI and Lee Indexes increased in the experimental group in the last two weeks and were statistically significant ($p < 0.05$). Fasting blood glucose levels were higher in the experimental group after the first week ($p < 0.05$). Amylase, TG, ALP and AI were high ($p < 0.01$) and BUN, T Pro and HDL were low ($p < 0.01$) in the experimental group.

There was no difference between groups for serum TNF- α and IL-6. In the experimental group, TLR4 ($p < 0.05$), LPS and insulin levels were high, and total protein was low ($p < 0.01$). In the colon tissue, TLR4, LPS and total protein were similar, although TNF- α and IL-6 were higher in the experimental group ($p < 0.01$). In feces, LPS increased in the experimental group ($p < 0.01$).

In metagenomic analysis, the percentage of archaea in the stool at kingdom level was higher in the control group ($p < 0.01$). Colonic microbiota was similar. According to other taxonomic classifications, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Proteobacteria* in feces; *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Proteobacteria* in the colon microbiome the difference between the groups was determined.

In addition, *Marvinbryantia formatexigens* mucosal inflammation and dysbiosis determined in both stool and colonic microbiome; *Adlercreutzia equolifaciens*, *Streptococcus peroris* and *Roseburia faecis* mucosal inflammation; *Ruminococcus bromii* and *Allobaculum stercoricanis*, on the other hand, show a healthy microbiome and represent the colonic microbiome by determining it from stool as an alternative to mucosal biopsy samples, which is an invasive method.

Key Words: Metabolic endotoxemia, Microbiota, Obesity, Rat.

1. GİRİŞ

Gelişmekte olan dünyada sedanter yaşam ve yağ içeriği yüksek kafeterya türü diyetle beslenmenin alışkanlık haline gelmesi obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkları majör bir halk sağlığı sorunu haline getirmektedir. Obezite temelde enerji alımı ve harcaması arasındaki dengesizlik ile ilişkilidir. Beslenme ve diyet içeriklerinin yalnızca obezite için değil, aynı zamanda vücudumuzda en az hücrelerimizin sayısı kadar ve büyük çoğunluğunun bağırsaklarımızda var oldukları bilinen mikrobiyotamızda da bir takım değişikliklere yol açtığı bilinmektedir. Hatalı beslenme sonucu bozulan bağırsak bariyeri, plazmada lipopolisakkaritlerin artışına yol açarak metabolik endotoksemiye zemin hazırlar. Metabolik endotoksemi (ME) ise metabolik hastalıklarla ilişkili sonuçlara yol açabilmektedir. Son yapılan bilimsel çalışmalar diyetten hızla etkilenen barsak mikrobiyotakompozisyonunun, obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların etiyolojisi ve patogenezinde önemli olduğunu vurgulamaktadır. Mikrobiyota metabolizması sonucu oluşan metabolitleri ve mikrobiyota çeşitliliğinin değişmesi obeziteye ilişkin bozukluklara aracılık edebilir.

Çalışmamızda, doymuş yağ asitlerini içeren hayvansal iç yağı ilave edilen ve normal diyet ile beslenen sıçanlarda mikrobiyota değişimlerinin ve metabolik endotokseminin bazı biyokimyasal ve yangısal parametreler aracılığı ile değerlendirilmesinin yanı sıra hem mukozal hem de dışkı mikrobiyota kompozisyonlarının karşılaştırılması da amaçlandı. Böylece obezitenin patogenezi daha iyi anlaşılacak ve çalışma sonuçları yeni tedavi seçeneklerine rehberlik sağlayabileceği düşünüldü.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite ve Yaygınlığı

Batı tarzı beslenmenin yaygınlaşması, Dünya'nın en önemli sağlık sorunları arasında kabul edilen obezitenin prevalansının hem yetişkinlerde hem de çocuklarda dramatik şekilde artışının en önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Obezite genellikle kısıtlı hareket etme ve alınan/harcanan enerji arasındaki dengesizlik sonucunda meydana gelmekte olup, pek çok metabolik hastalığın oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Hipertansiyon, insülin direnci, yüksek trigliserid (TG) ve düşük yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) konsantrasyonları ile birlikte obezite, metabolik sendromun bir parçasıdır (De Sereday ve ark. 2004). Metabolik sendromun prognozunu etkileyen faktörler arasında obezite ile yakın ilişkili olan Tip 2 diabetes mellitus (DM) ve mutlak insülin yetersizliğine bağlı olarak gelişen Tip 1 DM sonucunda oluşan mikro ve makro anjiyopati, arteroskleroz, konjestif kalp yetersizliği ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler komplikasyonlar sayılabilir (Öztürk ve ark. 1996, Rao ve ark. 2011).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre obezite vücut kitle indeksi (BMI) ölçeği kullanılarak hesaplanmaktadır. BMI hesaplaması kilogram cinsinden ağırlık ve metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünerek (kg / m^2) yapılmaktadır.

$$\text{BMI: Kilo (kg)} / ((\text{boy(cm)} / 100)^2)$$

Dünya Sağlık Örgütü'nün BMI'i sınıflandırması aşağıdaki çizelgede gösterilmektedir ve BMI değerleri, bir bireyin zayıf, sağlıklı, fazla kilolu veya obez olarak kabul edilip edilmediğini tanımlamak için kullanılır. WHO bu kategorileri 25,0 ve 30,0 arasındaki BMI'li bir birey için "aşırı kilolu", 30,0'dan büyük olan bir BMI değerlerini ise 'obez' olarak (Çizelge 1) tanımlanmıştır (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

Vücut kitle indeksine göre aşırı kilo ve obezite, sağlık için risk teşkil eden anormal veya aşırı yağ birikimi olarak tanımlanmaktadır. Aşırı kilo ve obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra kanserinde dahil olduğu bir dizi kronik hastalık için

ana risk faktörleridir. Bir zamanlar sadece yüksek gelirli ülkelerin sorunu olarak kabul edilen aşırı kilo ve obezite artık düşük ve orta gelirli ülkelerde, özellikle kentsel ortamlarda artış göstermektedir (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

Çizelge 2.1. Yetişkin bireylerde obezitenin sınıflandırması

Vücut kitle endeksi	Kategori
-20	Zayıf
20-24,9	Sağlıklı kilolu
25-29,9	Hafif şişman
30-34,9	Obez
35-44,9	Sağlık açısından önemli (Evre-I)
45-49,9	Aşırı şişman (Evre-II)
49,9	Ölümcül şişman (Evre-III)

Dünya Sağlık Örgütü, 1998 yılında obezitenin 21. yüzyılın en önemli sağlık sorunu olacağını bildirmiş ve 2016 yılında dünya genelinde 1,9 milyar fazla kilolu ve 650 milyon obez yetişkin olduğu ifade etmişlerdir. Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar Risk Faktörleri İşbirliği Grubu'nun (NCD-RisC) yaptığı tahminlere göre dünya çapında 18 yaş ve üzeri yetişkin nüfusta obezite prevalansı, 1975 yılından 2014 yılına kadar erkeklerde üç kat, kadınlarda ise iki kat artmıştır. WHO'ya göre, ülkemizde de obezite sıklığı hem yetişkin hem de çocuk ve ergenlerde giderek artmaktadır. Küresel Hastalık Yüku Obezite İşbirliği Grubu'nun 2015 yılı raporuna göre ise dünyada obez nüfus 711,4 milyona (107,7 milyon çocuk ve 603,7 milyon yetişkin) ulaşmıştır (TEMĐ 2018).

Yine NCD-RisC'nin 2017 yılında yaptığı çalışmada Dünya çapında obez çocuk ve ergenlerin sayısının (beş ila 19 yaşları arasında) son kırk yılda on kat arttığı ve mevcut eğilimlerin devam etmesi durumunda, 2022 yılına kadar daha fazla sayıda çocuk ve ergen, orta veya obez olacak kadar ağır derecede kilolu olacaklarını tahmin etmiştir (NCD-RisC 2017).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), "2019 Türkiye Sağlık Araştırması" sonuçlarına göre de, boy ve kilo değerleri kullanılarak hesaplanan vücut kitle indeksi incelendiğinde 15 yaş ve üstü obez bireylerin oranı 2016 yılında yüzde 19,6 iken 2019'da yüzde 21,1'e yükseldiği gözlenmektedir. Cinsiyet özelinde bakıldığında ise kadınların yüzde 24,8'i erkeklerin yüzde 17,3 obez iken, kadınların yüzde 30,4'ü, erkeklerin yüzde 39,7'sinin obez öncesi olduğu belirlenmiştir (<https://www.aa.com.tr/tr/info/infografik/18898>).

2.2. İntestinal Mikrobiyota

Obezite sürecinde yalnızca yukarıda bahsedildiği gibi anormal veya aşırı yağ birikiminin laboratuvar yansıması olan lipid ve lipoproteinlerin seviyelerinde değişiklikler meydana gelmez. Aynı zamanda son yıllarda aralarında sıkı ilişki olduğu ve bu kronik sürecin patogenezinde rol oynadığı belirlenen ve beslenme alışkanlıkları ile ilişkilendirilen bağırsak mikrobiyotasında da bir takım değişiklikler meydana gelmektedir (Kim ve ark. 2012).

İnsanlarda gastrointestinal sistem, normal homeostaz ve hastalık sırasında konakçı üzerinde belirgin bir etki meydana getirebilen bağırsak mikrobiyotasını içerir ve obeziteye beslenme kilo alımını ve yağlanmayı arttıran olumsuz bir mikrobiyom ile karakterizedir. Diyet-mikrobiyota değişikliklerine bağlı meydana gelen obeziteye yatkınlık, konakçıyı periferik ve merkezi inflamasyona da yatkın hale getirmektedir (Duca ve ark. 2014).

Mikrobiyota bağırsaklardaki karmaşık ve dinamik bir mikroorganizma topluluğudur. Bebeklik döneminde değişken olup yetişkinlik döneminde belirginleşen bağırsak mikrobiyotası büyük ölçüde sabit kalmakta ancak yaşlılıkla birlikte tekrar bir miktar değişime uğramaktadır. Ancak mikrobiyotanın aktivitesi ve bileşimi, konağın genetiği, yaşı, beslenmesi ve sağlık durumundan etkilenmektedir (Ottman ve ark. 2012). Mikrobiyotanın şekillenmesine birçok faktör katkıda bulunmasına rağmen diyet yaşam boyu bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesinde ana faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bağırsak bakterileri immün sistem, metabolik homeostaz ve patojenlere karşı korunmada önemli rol oynar. Bağırsaklarda yaşayan bakterilerin bileşiminin normal mikrobiyotanın aleyhine değişimine disbiyozis denir. Disbiyozis birçok yangısal hastalık ve enfeksiyonun patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Thursby ve Juge 2017, İlhan 2018).

İnsan bağırsak mikrobiyotasında bakteriler dışında bazı mantar, virüs ve ökaryotik türleri de kapsayan 100 trilyon canlı bulunmaktadır. Bu çeşitlilik pek çok enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesinde rol oynayarak fizyolojik homeostazın sağlanmasında temel rol oynamaktadır. Günümüzde yaklaşık 100 büyük bakteri grubu tanımlanmış ve bunlar filum olarak isimlendirilmiştir. Her filum farklı biyokimyasal yeteneklere sahiptir (Gündoğdu 2017).

İnsanlarda yapılan pek çok çalışmada, metagenomik analizler sonucunda yetişkin sağlıklı bir bireyin bağırsak mikrobiyotasında ağırlıklı olarak altı bakteri filumu tanımlanmıştır. Bunlar *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia*'dır. Bu gruplandırmanın % 90'dan fazlası *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* 'ten oluşmakta ve diğer filumların oranı % 2 ile % 10 arasında değişmektedir (Rinninella ve ark. 2019). *Firmicutes* filumu *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* ve *Ruminococcus* gibi 200'den fazla farklı cinsten oluşur. *Clostridium* cinsleri, *Firmicutes* filumlarının % 95'ini temsil eder. *Bacteroidetes*, *Bacteroides* ve *Prevotella* gibi baskın cinslerden oluşur. *Actinobacteria* phylumu ise oran olarak daha az miktarda bulunur ve esas olarak *Bifidobacterium* cinsi tarafından temsil edilir (Arumugam ve ark. 2011).

Yerleşik bağırsak mikrobiyotası hem doğal hem de adaptif immun yanıtları aktive edebilen bir takım bileşenlerin yanı sıra karbonhidrat fermantasyonu, besin emilimi, patojen bakterilerden korunma ve metabolik bozuklukların düzenlenmesinde de son derece önemlidir (Blandino ve ark. 2016, Sekirov ve ark. 2010, Turnbaugh ve ark. 2009A).

İnsan mikrobiyomunun sağlıktaki önemi, son yıllarda ilgi odağı olmuş ve bilimsel araştırmalar içerisindeki yerini almıştır. Oral, nazal, deri, ürogenital ve bağırsak gibi çeşitli vücut bölgelerinde mikrobiyota içeriği ve işlevi birbirinden farklı olup çevresel faktörler ve stres faktörlerinden etkilenecek hastalık gelişimine katkıda bulunabilmektedir (The Human Microbiome Project Consortium, 2012). Ancak yapılan bilimsel çalışmaların büyük çoğunluğu bağırsak mikrobiyotası üzerine yoğunlaşmakta olup beyin ve bağırsakarasındaki çift yönlü sinyal yolu ve bağırsak beyin eksenini pek çok araştırmanın temel hedefidir. Bu etkileşim, merkezi sinir sistemi-gastrointestinal sistemin fonksiyonları ve netice de insan fizyolojisini etkilemektedir (Farzi ve ark. 2018). İşte bağırsak-beyin eksenini bağışıklık, endokrin ve nöronal bileşenleri etkilemesinden ve iki yönlü entegre sistem oluşturmamasından dolayı “ikinci beyin” olarak adlandırılmaktadır (Ochoa-Repáraz ve Kasper 2016).

Sindirilmeden kolona ulaşan karbonhidratların, bağırsak mikrobiyotası tarafından fermantasyonu sonucunda kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) ve gazlar ortaya çıkmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının fermantasyonu ile biyolojik önemi olan asetat, propiyonat ve

bütirat oluşur ve bunlar bağırsak SCFA'larının % 95'ini oluşturur (Bauer ve ark. 2016). Üretilen bu SCFA'lar gastrointestinal sinirler yoluyla beyine sinyal göndermekte ve bu da bağırsak-beyin eksenini olarak adlandırılmaktadır (de Vadder ve Mithieux 2018). Ayrıca bunlar konağın günlük enerji gereksinimlerinin yaklaşık % 10'unu sağlamaktadır (Schwiertz ve ark. 2010). Kolon hücreleri birincil enerji kaynağı olarak bütiratı kullanırken (ağırlıklı olarak bütirat üreten bakteriler *Roseburia* spp. ve *Eubacterium rectale*), propiyonat (*Bacteroidetes* türleri tarafından üretilirler) portal sirkülasyona girdikten sonra karaciğerde glukoneogenezde kullanılmasının yanı sıra açlık tokluk sinyallerinin oluşumunda görev alır. Asetat ise çeşitli periferik dokularda sistematik olarak sirküle edilmektedir (Duncan ve ark. 2007, Gao et al. 2009, Salonen ve ark. 2014, Bauer ve ark. 2016).

Asetat, propiyonat ve bütirat, kolon ve dışkıda yaklaşık olarak 60:20:20 mol oranında bulunur (Hijova ve Chmelarova, 2007, Binder 2010, Cummings ve ark. 1987). Diyetle bağlı olarak, SCFA'ların toplam konsantrasyonu proksimal kolonda 70 ila 140 mM arasında distal kolonda ise 20 ila 70 mM'ye düşer (Topping ve Clifton 2001).

Asetat ve propiyonat, *Bacteroidetes* filumunun ana ürünleridir ve bütirat esas olarak *Firmicutes* filum tarafından üretilir. Çoğu bakteriyel aktivite, substrat mevcudiyetinin en yüksek olduğu proksimal kolonda bulunur. Ancak distal kolona doğru, substratın mevcudiyeti azalır ve serbest su ekstraksiyonu, substratların ve mikrobiyal ürünlerin difüzyonunu azaltır. Bu, proksimal kolonun temel fermentasyon yeri olmasını sağlar. Proksimal kolon da esas olarak sindirilemeyen karbonhidratlar sakkarolitik bakteriler tarafından fermente edilir, birincil fermenterler *Bacteroidetes*'tir ve ana fermentasyon ürünleri, CO₂ ve H₂ gibi gazlarla birlikte SCFA'lardır (den Besten ve ark. 2013). Üç SCFA'dan bütirat pratik olarak obezitenin uygun bir belirteci (hiperglisemi, gıda alımını ve yağlanmayı azaltarak antiobesite etkisi gösterir) olarak kabul edilir ve üretim miktarı mikrobiyota bileşimi, onu üreten mikroorganizma popülasyonu ve kalın bağırsağın pH'sı ile belirlenir. Substrat biyoyararlanımındaki değişiklik bütirat üreten bakteri popülasyonunun bileşimini olumlu/olumsuz değiştirebilir ve böylece bütirat üretimi artabilir/azalabilir (Shoaie ve ark. 2013). İnsan dışkı pH'nın 5,5 olduğu durumlarda bütirat üreten bakteri popülasyonu (*Firmicutes* phylum) toplam bakteri popülasyonunun % 20'sini içerir. Ancak, fermente olabilen diyet lifinin sınırlı olduğu kalın bağırsağın distal

kısımlarında, lüminal pH 6,5'e yükseltilir. Bu alanda sadece bütirat üreten bakteriler ortadan kalkmaz, aynı zamanda ürünleri ağırlıklı olarak obezogenik olan asetat ve propiyonat üreten bakteri popülasyonunda önemli bir artış meydana gelir (den Besten ve ark. 2013). Distal kolona genel olarak karbonhidrat ve su tükendiği için fermentasyon daha azdır. pH'daki değişimde buna bağlı olarak gerçekleşmektedir (Wong ve ark. 2006).

Kısa zincirli yağ asitlerinin %95'lik yüksek oranına karşılık %5'den daha az oranlarda format, valerat ve kaproat gibi uçucu yağ asitleri de bulunmaktadır (Cummings ve ark. 1987). Sindirilmemiş proteinler veya peptitler, SCFA'nın mikrobik üretimi için substratlar olabilir. Bununla birlikte, mikrobiyal protein fermentasyonu, birçoğu epitelyal hücre metabolizması ve bariyer fonksiyonu üzerinde olumsuz sonuçlara sahip olabilen ve konağın bağırsak ve metabolik sağlığını etkileyebilen dallı zincirli yağ asitleri, aminler, fenoller, indoller ve tiyoller dahil olmak üzere çeşitli metabolitlerin üretimine de neden olabilir (Macfarlane ve Macfarlane 2012, Macfarlane ve ark. 1992, Corpet ve ark. 1995, Windey ve ark. 2012). SCFA üretiminin büyük kısmı sekunda ve proksimal kolonda gerçekleşir. Dışkıda asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonları yaklaşık 3: 1: 1 mol oranında bulunur (Hijova ve Chmelarova 2007)

SCFA'den biri olan bütirat kolonositlerin enerji ihtiyacının yaklaşık % 60-70'ini karşılar (den Besten ve ark. 2013). Yine asetat, propiyonat ve bütirat, sıçanlarda epitel hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını da uyarmaktadır (Jung ve ark. 2015). SCFA, G- protein bağlı hücre yüzey reseptörlerinden olan, G-protein eşlikli reseptör 41 (GPR41, serbest yağ asidi reseptörü 3 olarak da bilinir) ve GPR43 (serbest yağ asidi reseptörü 2 olarak da bilinir) aktivasyonu yoluyla bağırsak ve konak metabolizmasını etkilemektedir. GPR41 başlıca propiyonat ve sonrasında bütirat ve asetat ile aktive edilmektedir. GPR43 ise üç SCFA tarafından benzer oranda aktive edilir (Brown ve ark. 2003, Karaki ve ark. 2008, Tazoe ve ark. 2009).

Bu iki G protein eşlikli reseptör kolon epitel hücreleri, insan beyaz yağ dokusu, (Brown ve ark. 2003; Karaki ve ark. 2008, Tazoe ve ark. 2009) iskelet kası ve karaciğerde ifade edilmektedir (Ang ve Ding 2016). Reseptörlerin buralarda bulunması SCFA'nın substrat olarak görevli olduğunun ve periferik dokularda enerji metabolizmasını doğrudan etkileyebileceğinin göstergesidir. Ayrıca, bağırsak epitel hücrelerinin lümene bakan apikal

membranında, adipositler ve bağışıklık hücrelerinde eksprese edilen GPR109a'nın (hidroksikarboksilik asit reseptörü 2 olarak da bilinir) bütirata yanıt verdiği, ancak asetata veya propiyonata yanıt vermediği de bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur (Taggart ve ark. 2005, Thangaraju ve ark. 2009, Liu ve ark. 2014).

Bağırsak mikrobiyotası tarafından fermentasyon sonucunda oluşan SCFA'lar anti-enflamatuvar, antikarsinojenik ve immünomodülatör etkilerde gösterirler. Bu fermentasyon işlemi için büyük çoğunluğu karbonhidrat yapıda olan fruktooligosakkaritler (FOS), inülin ve galaktooligosakkaritler gibi prebiyotik özellik de gösteren sindirilmeyen bileşenlerin diyetle bulunması gerekmektedir. Bunlar bağırsak mikrobiyotası için besin kaynağı olarak işlev görürler (Hidaka ve ark. 1986, Rowland ve ark. 2017). Açığa çıkan SCFA, endojen sinyal molekülleri olarak düşünülebilir ve gastrointestinal kanal, bağışıklık hücreleri, karaciğer ve adipoz dokuda bulunan G-proteini eşlikli reseptör (GPCR) olan serbest yağ asitleri reseptörleri 2 ve 3'e (FFAR2 / FFAR3) bağlanarak bu reseptörleri aktive eder. Kolon ve ileumda lokalize olan FFAR2 ve 3, yine burada bulunan enteroendokrin L hücreleri tarafından ifade edilir. SCFA'lar GPCR ailesinden olan bu reseptörlere bağlandıktan sonra, L-hücrelerinden Glukagon Benzeri Peptit-1 (GLP-1) ve Peptit YY (PYY) gibi bağırsak hormonlarının sentez ve salınımı da uyarmaktadır (Kasubuchi ve ark. 2015). Prebiyotik takviyeleri uygun mikrobiyal türlerin büyümesini ve aktivasyonunu teşvik edip sinyal yollarını aktive eder ve bağırsak hormon sentezinde de bir artışa neden olur (Pan ve ark. 2009, Bomhof ve ark. 2014). Ayrıca enteroendokrin hücrelerin farklılaşması üzerine de olumlu etkiler sağlayarak artan GLP-1, Gastrik İnhibitör Polipeptit(GIP), ve PYY hormon konsantrasyonları ile tokluk hissinin oluşumunu tetikleyerek, adipozitenin ve gıda tüketiminin azalmasına da yardımcı olur (Cani ve ark. 2005). Ayrıca bu reseptörler adipoz doku, pankreas, karaciğer, kas ve beyin gibi diğer dokularda da ifade edilmekte ve beyin-bağırsak eksenini etkilemektedir (Mishra ve ark. 2020).

Mikrobiyotanın düzenlenmesinde diyetin prebiyotik kadar önemi olan bir diğer bileşeni de diyetle alınan canlı mikroorganizmalardır ve bunlar probiyotikler olarak isimlendirilir. Probiyotikler, endojen mikrofloranın özelliklerini geliştirir ve konakçı sağlığını olumlu yönde etkilerler. İdeal bir probiyotik mide ve safra asidine dirençli, mukus ve / veya insan epitel hücrelerine ve hücre hatlarına tutunabilir, potansiyel olarak patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip, yüzeyde patojenlerin yapışmasını

azaltabilme yeteneğine ve safra tuzu hidrolaz aktivitesi gösterebilen özelliklere sahip olmalıdır (Hill ve ark. 2014). Mikrobiyal popülasyon üzerine etkileri olan probiyotiklerin en iyi kaynağı fermente gıdalardır. Fermente gıdalar, kontrollü mikrobiyal büyüme ve gıda bileşenlerinin enzimatik etkileşimleri yoluyla üretilen gıdalar veya içecekler olarak tanımlanır. En iyi bilinen fermente probiyotik kaynakları kefir, kombucha, lahana turşusu, tempeh, natto, miso, kimchi, maya ekmeğidir (Dimidi ve ark. 2019).

2.3. Mukoza ve Dışkı Mikrobiyotası

Gastrointestinal mikrobiyata topluluklarındaki değişiklikler insanlarda pek çok hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Çoğu çalışma, dışkı örneklerini bağırsak mikrobiyotası için bir gösterge olarak kullanır. Ancak fekal mikrobiyom, hastalık bölgesinde mukozaya bağlı mikrobiyotayı tam olarak temsil etmemektedir. Bu sebeple mukozal biyopsiler dışkı analizlerinde olduğu gibi 16S ribozomal RNA (rRNA) gen dizileme çalışmaları ile belirlenebilmektedir (Mottawea ve ark. 2019). Son çalışmalar bağırsak mikrobiyota topluluğunu luminal mikrobiyota ve mukoza ile ilişkili mikrobiyota olarak ikiye ayırmakta, mikrobiyal bileşimlerinin farklılığının yanı sıra bu iki farklı mikrobiyal popülasyonun bağırsak mikrobiyota ekosisteminde farklı roller oynadığını da ifade etmektedir (Ringel ve ark. 2015). Luminal mikrobiyota tüm bağırsakta bulunur ve metabolik aktiviteler ve gıdaların ürüne dönüşmesinde rol oynamaktadır. Mukoza ile ilişkili mikrobiyota ise özel bir niş oluşturarak konakçı bağırsağında daha belirgin bir rol oynayabilir (Sundin ve ark. 2015). Ayrıca Ringel ve ark. (2015), mukozal örneklerden yaptıkları sekans çalışmaları sonrasında mukozal mikrobiyotanın daha fazla bakteri çeşitliliği barındırdığı, fekal ve mukozal örneklerde var olan baskın bakteriyel takson oranlarında da önemli farklılıklar olduğunu ifade etmişlerdir. Gevers ve ark. (2014), Crohn hastalığında görülen mikrobiyal disbiyozun mukozal biyopsilerde dışkıdan daha kolay tespit edildiğini göstermiştir. Fare kolit modeli oluşturulan bir diğer çalışma da bağırsak disbiyozunun erken belirtilerinin mukoza topluluklarında tespit edilebildiğini ancak dışkıda bulunmadığını ortaya koymuştur (Glymenaki ve ark. 2017). Bu nedenle, mukozaya bağlı mikrobiyotanın konağın bağışıklık tepkisini, fizyolojisini ve bağırsak-beyin yolağını lümen bakterilerinden daha fazla etkileyeceği düşünülmektedir (Zoetendal ve ark. 2002, Mottawea ve ark. 2019).

Beslenme ve besin içeriklerinin mikrobiyota üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olması ve gıdaya bağlı meydana gelen bağırsak mikrobiyotası değişikliklikleri, batı tarzı diyet ile beslenen farelerde yapılan bir çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu diyet rejimi kolonik mukus tabakasının penetrasyonu ve büyümesinin bozulması ile ilişkilendirilmiştir. Mukus defekti ile sonuçlanan bu süreçte mikrobiyota kompozisyonunda meydana gelen farklılıklarda eşlik etmiştir. Normal fare diyeti ile beslenenlerden elde edilen mikrobiyota nakli, batı diyeti ile beslenen farelerde mukus bozukluklarını önlemiştir (Schroeder ve ark. 2018).

Deneyisel obezite modellerinde, bağırsak bariyerinde önemli yapısal değişiklikler meydana geldiği ve bunun bağırsak geçirgenliğinde artışa yol açarak, mikrobiyom kaynaklı lipopolisakkaritin (LPS) kan dolaşımına translokasyonunu desteklediği ortaya konulmuştur (Pirlich ve ark. 2006, Cani ve ark. 2007; Cani ve ark. 2008). LPS'nin serum konsantrasyonlarında iki ila üç kat artışı ile sonuçlanan bu tablo bilimsel çalışmalarda “metabolik endotoksemi” (ME) olarak yerini almıştır (Cani ve ark. 2007).

2.4. Metabolik Endotoksemi

Metabolik hastalıklarda ve özellikle obezitede meydana gelen düşük dereceli yangının moleküler mekanizması her ne kadar açıklanamamış olsa da yaygın bir bulgudur (Esser ve ark. 2014). Lipopolisakkarit Gram negatif bakterilerin dış zarında bulunur ve bu mikroorganizmalardan LPS salınımı için mutlaka bakteri hücre duvarının tahrip edilmesine gerek yoktur. Aksine, LPS bakteriyel dış zar kesecikleri biçimindeki membran vezikül trafiğinin normal fizyolojik aktivitesinin bir parçası olarak salgılanır (Kulp ve Kuehn2010). Lipopolisakkarit, vücutta deri ve mukoza zarlarından veya bakteriyel enfeksiyon meydana gelen lokal bölgelerden köken almasının yanı sıra, bağırsak mikrobiyotası vücuttaki pro-enflamatuvar sitokin salınımını uyaran endotoksinlerin başlıca doğalrezervuarı olarak kabul edilir (Savage 1977). Epidemiyolojik çalışmalar artmış endotoksin yükünün, bağırsak sisteminde endotoksin üreten bakterilerin artmış popülasyonunun bir sonucu olabileceğini göstermişlerdir. *Escherichia coli*'den saflaştırılmış endotoksinin mikropsuz fare modellerine enjekte edilmesi ile obezite ve insülin direncinin indüklenmesi, obezite ve LPS arasındaki bağlantıyı güçlendirmiştir (Moreno-Navarrete ve ark. 2012, Cani ve ark. 2007).

Bağırsak mikrobiyota türevi LPS üretimi metabolik endotoksemi, inflamasyon ve metabolik hastalıkların başlangıcı ve ilerlemesinde rol oynayan bir faktör olarak tanımlanmıştır (Cani ve ark. 2012). Enflamasyonu indükleyen ve obeziteye neden olan yağlanmayı artıran LPS Gram negatif bakteriyel bir üründür. Ancak, obez bireylerde zayıf bireylerden daha fazla *Firmicutes* (Gram pozitif) ve daha az *Bacteroidetes* (Gram negatif) belirlenmesi gibi bazı çelişkili bulgular da vardır. Bu tür çelişkilere rağmen, son çalışmalar obez kişilerin mikrobiyotasının yüksek miktarlarda LPS kaynağı olan *Prevotellaceae* (bir *Bacteroidetes* alt grubu) açısından zengin olduğunu göstermektedir (Graham ve ark. 2015).

Normal fizyolojik miktarlarda LPS varlığı bağırsak lümeninde herhangi bir zararlı etki oluşturmaz. Özellikle yüksek yağlı diyetle (HFD) ya da kafeterya diyeti ise beslenmeye bağlı meydana gelen bağırsak disbiyozisi sonucu indüklenen metabolik endotoksemi, inflamasyonun ana nedeni olarak görülmekte ve LPS’de bu yangıya katkıda bulunmaktadır (Catorce ve ark. 2016, Bortolin ve ark. 2018). Bağırsak bariyerinin bozulması LPS’nin dolaşım sistemine transfer olmasına neden olarak ME oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Moreira ve ark. 2012).

Normal olmayan şekilde yani düşük düzeylerde ve sürekli oluşan LPS varlığında kronik yangı oluşur. Bu yangı toll benzeri reseptörü (TLR) 4 aracılı enflamatuvar aktivasyonla tetiklenir (Suganami ve ark. 2007). Toll benzeri reseptörü, gastrointestinal kanaldaki çeşitli hücreler tarafından eksprese edilerek bağırsak epitelinde mikrobiyal ürünleri tespit eder ve doğuştan gelen immün yolların aktivasyonunda merkezi bir rol oynar. TLR2 ve TLR4, mikrobiyal membran bileşenlerine yanıt veren en iyi TLR'lerden ikisidir. Luminal ve mukozal mikrobiyota popülasyonu arasındaki farklılıklar TLR ile de ilişkili olup mukozal mikrobiyom TLR2 ve TLR4 ekspresyonu ile daha güçlü bir ilişki içerisinde (Dong ve ark. 2017). Metabolik endotokseminin bir parçası olan LPS, prototipik endotoksin gibi davranır ve dolaşımdaki LPS’nin LPS-Bağlayıcı Proteine (LBP) bağlanmasını ve hem zar-bağılantılı formda (mCD14) hem de çözünür formda (sCD14) dolaşımda bulunan CD14 reseptörüne transferini içerir (Hailman ve ark., 1994). LPS-LBP-CD14 kompleksi, TLR4’e bağlı bir mekanizma yoluyla interlökin-6 (IL-6), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), nitrik oksit ve ekinozoidlerin sekresyonunu tetikleyerek yangısal süreci başlatır. LPS özellikle monositler, dentritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri gibi pek çok hücrede CD14/TLR4/MD2 reseptör kompleksine bağlanır. (Stoll ve ark. 2004, Abbas

ve Lichtman 2006). Böylece konak hücresinde TLR-4 tarafından LPS tanınması ve dolaşımında IL-6 ve TNF- α gibi pro-enflamatuvar faktörlerin ifadesinin artışı, metabolik hastalıklar ve obezitenin gelişimine katkıda bulunur (Cani ve ark. 2007).

Metabolik endotokseminin kronik düşük dereceli inflamasyon da dahil olmak üzere enflamasyonun ana nedeni olduğu deneysel çalışmalarda, yemek sonrası dolaşımdaki LPS düzeylerindeki artışla yakından ilişkili enflamatuvar bir tepkiye neden olabileceğini göstererek ortaya konulmuştur (Laugerette ve ark. 2011A, Ghoshal ve ark. 2009). Bunun aksine tüm diyet müdahaleleri metabolik endotoksemiye ve bununla ilişkili yemek sonrası yangıya yol açmaz. Hayvan çalışmalarından elde edilen veriler, diyet yağlarının postprandiyal endotoksemiden sorumlu ana makro besin maddeleri olduğu ve diyet yağının miktarının ve kalitesinin metabolik endotoksemiye farklı şekilde etkilediğini göstermiştir. Ayrıca, doymamış yağ asitleri bakımından zengin sağlıklı diyetler, düşük pro-enflamatuvar belirteçlerle yakından ilişkili düşük postprandiyal LPS seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Aksine, yüksek enerjili veya yüksek doymuş yağ içeren diyetlerin tüketimi, artmış postprandiyal LPS seviyeleri ve dolaşımda artan pro-enflamatuvar belirteç seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Huang ve ark. 2007, Laugerette ve ark. 2011B, Netto ve ark. 2018).

2.5. Diyet Kompozisyonu ve Obezite Modelleri

Diyetle indüklenen obezite modeli insanlardaki obezite ile benzemekte ve bu modeller obezite ve insülin direncindeki diyet ve genlerin etkileşimini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Nilsson ve ark. 2012). Hariri ve Thibault (2010) yaptıkları epidemiyolojik çalışmalarda yağ alımı ve obezite arasındaki pozitif ilişkiyi göstermiştir. Fare ve sıçanlar benzerlik gösterdiğinden, bu türleri obezite diyetlerinin incelenmesi için uygun model olarak kabul etmişlerdir.

Deney hayvanları ile gerçekleştirilen bu modellemelerde, genellikle HFD, şeker veya sodyum gibi içerikler bakımından zenginleştirilmiş kalorili yiyecekler ad libitum olarak kullanılır. Böylelikle obezitenin ilerlemesi ve diyabetin yanı sıra bunlar ile ilgili diğer hastalık komplikasyonları da izlenebilir (Winzell ve Ahren 2004). Ancak diyetle indüklenen obezite modelinde diyet içeriğindeki küçük farklılıklar metabolik parametreleri ve deneysel sonuçları büyük ölçüde etkileyebilmektedir. Örneğin, sıçanlarda, domuz yağı gibi bir hayvansal diyet yağı, yağlanma ve insülin direnci üzerinde bitkisel yağlardan daha

belirgin bir etkiye sahiptir. Kısaca doymamış / doymuş yağ asitlerinin oranındaki değişiklikler ve diyetin fiziksel formu (sıvı, toz ya da katı oluşu) gibi küçük detaylar bile deneysel olarak oluşturulan obezite modelinin sonuçlarında farklılıklara yol açmaktadır (Timmers ve ark. 2011, Lucas ve ark. 1989, Sclafani 1987).

İnsanlar günlük kalorilerinin yaklaşık % 30'unu yağlardan karşılamaktadır. Diyetle indüklenen obezite modellerinde de deney hayvanları için kullanılan içeriklerde yağ oranı % 40 ila % 60 arasındadır (Warden ve Fisler 2008, Desmarchelier ve ark. 2013). Yağ oranının % 80'e kadar çıkan çalışmaların sonuçları sorgulanabilir. Ancak diyetle yüksek miktarlarda yağ alımının bağırsak bariyerini bozduğunu belirten ME hipotezi, büyük ölçüde karbonhidrat içermeyen bir diyet formülasyonu ve günlük kalori alımlarının % 78'inin yağdan karşılandığı bir modeldir (Cani ve ark. 2007). Takip eden çalışmalar ise bağırsak bariyerinde meydana gelen hasarın sadece HFD tüketimi değil aynı zamanda barınma koşulları ve bağırsakların bakteriyel kolonizasyonu ile de ilişkili olduğunu ifade etmektedir (Kless ve ark. 2015, Müller ve ark. 2016).

2.6. Metabolik Endotoksemi Modeli

2.6.1. Diyet İçeriği

Çoğu deneysel obezite modeli meydana getirilen diyetlerin içeriğinde insan diyetinin karmaşıklığı ve çeşitliliği yoktur. Ayrıca, kemirgen diyetleri tipik olarak kolay kullanım ve tartma için topak/pelet haline getirilir. Diyet çeşitliliğinin zayıflığı, bu tür diyetlerle beslendiklerinde kemirgenlerin neden belirgin veya kalıcı hiperfaji göstermediklerini açıklayabilir (la Fleur ve ark. 2014). Bu bulgu, standart düşük yağlı diyetten daha lezzetli bir HFD'e geçişten sonraki ilk günlerde farelerin büyük ölçüde fazla yediği ancak daha sonra kontrol diyeti ile beslenen hayvanların seviyelerine yaklaşan düzeylerde, enerji alımını kademeli olarak azalttığı gözlemiyle desteklenmiştir (Kless ve ark. 2017). Kemirgenlerin birkaç farklı tatlı, yüksek enerjili 'abur cubur' (normal yemek ve suya ek olarak) serbest olarak erişebildiği kafeterya diyeti ise, obez olan insanlarda görülen hedonik hiperfajiyi daha iyi taklit eden alternatif bir yaklaşımdır (Berg ve ark. 2009, Johnson ve Kenny 2010, Sampey ve ark. 2011). Sonuç olarak, HFD ve kafeterya diyeti karşılaştırıldığında, kafeterya diyeti daha belirgin kilo alımına ve daha ciddi diyabetik semptomlara neden olmaktadır (Sampey ve ark. 2011).

2.6.2. Model Hayvanların Yaşı

Obezite modeli oluşturmada diyet içeriği ve fiziksel yapısının yanı sıra model hayvanın yaşı da obezite ve T2DM araştırmalarındaki sonuçlar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. İnsanlarda vücut ağırlığı yaşıla birlikte artar ve hem erkek hem de kadınlarda 55 yaşlarında pik yapar. Yaşılanma hem yağsız kütlenin hem de yağ kütlesinin yeniden dağıtılması ile ilişkili olup yağ kitlesinin artışı 30’lu yaşılarda başlar (Villareal ve ark. 2005).

İntramüsküler ve intrahepatik yağ kitlesi yaşılılarda daha fazladır ve bu artış ilerleyen yaşıla bağlı gelişen insülin direnci ve glukoz toleransı ile bağlantılıdır (Cree ve ark., 2004). İnsanlarda olduğu gibi kemirgenlerde de yaşı metabolik parametreleri etkilemektedir. Örneğin metabolik çalışmalar için yaygın kullanılan fare ırkı olan C57BL / 6J’de vücut ağırlığı yaşıla birlikte artarak 9 aylık olduklarında zirve yapar ve 22 aylık olduklarında 3 aylık genç farelere kıyasla yağ kütlesindeki artış belirgindir (Houtkooper ve ark. 2011, van der Heijden ve ark. 2015).

Farelere kıyasla sıçanlarda glukoz toleransı genellikle yaşıla birlikte kötüleşir. Yine sıçanlarda pankreastan glukoz uyarımlı insülin salınımı yaşıla birlikte azalır (Nadiv ve ark. 1992, Elahi ve ark. 1985). Bir diğer önemli nokta ise, diyet ile indüklenen obezite modelinde deney hayvanlarının çalışmanın başlangıcındaki yaşıdır. Örneğin, fareler çok genç yaşıla (<8 hafta) HFD’e maruz bırakılırsa özellikle obezite ve yağlanma gelişmesi belirgin olmayabilir (Nishikawa ve ark. 2007).

Farelerin aksine Castro ve ark. (2013) 4 haftalık genç ve 12 haftalık yetişkin sıçanların diyetine 13 hafta fruktoz ve yüksek yağ ekleyerek yaptıkları obezite modelinde erişkin sıçanlarda fruktoz diyetinin serum lipidlerinin metabolizmasında belirgin değişikliğe neden olduğunu ve karaciğer ve böbreklerde ektopik yağ birikimini indüklediği, genç sıçanlarda ise HFD’in visseral lipid depolarının artmasına neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.7. Deney Hayvanlarında Obezitenin Fiziksel Olarak Değerlendirilmesi

Obezite modellerinde vücut kompozisyonunu değerlendirmek için vücut ağırlığı ölçümleri, organ ağırlıkları, karkas analizleri, çift enerjili X - ışını absorpsiyometrisi, bilgisayarlı tomografi, nükleer manyetik rezonans relaxometri veya kantitatif manyetik rezonans ve manyetik rezonans görüntüme gibi metodolojilerden faydalanılabilir. Ancak bu yöntemlerin hayvan deneyleri için avantajlarının yanı sıra birtakım ekipmanlara ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları da vardır (Kleinert ve ark. 2018).

Bu yöntemlerden vücut ağırlığının belirlenmesi, hayvanın bütün vücut kütlelerinin değerlendirilmesi, hızlı, doğru, anestezide gerek duyulmadan yapılması ve doğrusal ölçümler için uygun olması gibi avantajlara sahiptir. Bunun yanı sıra vücut kompozisyonunu tam olarak değerlendirememesi ve düşük hassasiyet gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Fosbol ve ark. 2015).

Bernardis ve Patterson (1968), Lee tarafından 1928'de sıçanlarda obezitenin belirlenmesinde kullanılan ve ağırlığın küp kökünün (gram cinsinden) nazoanal uzunluğa (cm cinsinden) bölünüp 1000 ile çarpılması sonucu hesaplanan "Lee Index"ini tanımlamışlardır.

$$\text{Lee Index} = \frac{(\text{Vücut Ağırlığı})^{1/3}}{\text{Nazo-Anal Uzunluk (cm)}} (\text{gr}) \times 1000$$

Lee indeksi, sıçanlarda diyet ile indüklenen ve vücut ağırlığında artışla sonuçlanan obeziteyi belirlemek için hızlı ve doğru bir yol olarak kullanılabilir. Hesaplamalar sonucunda Lee indeksin 300'ün altında çıkması normal kabul edilir. >300 olması ise obezite olarak tanımlanmaktadır. Yine Angeloco ve ark. (2012)'de sıçanlarda yüksek yağlı ve sukrozlu diyetlerle beslenen sıçanlarda yaptıkları çalışmada biyoelektrik empedansın vücut kompozisyonundaki değişiklikleri tespit etmek için yeterince hassas olmadığını, bunun aksine antropometrik parametreler yani vücut kitle indeksi, Lee indeksi ve karın çevresi ölçümlerinin sıçanlarda vücut kompozisyonunu tahmin etmede kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Lee indeksinde kullanılan nazo-anal uzunluk yani gövde uzunluğu, burun deliğinden kuyruğun tabanına kadar ölçülmekte (pelvik kaudal kavşak) ve ölçümler için elastik olmayan bir şerit metre kullanılmaktadır (Angeloco ve ark. 2012).

Deney hayvanlarında obezitenin değerlendirilmesinde Lee indekse benzer şekilde ve aynı ölçümler kullanılarak hesaplama yapılan bir diğer yöntemde insanlarda yaygın olarak kullanılan BMI'dir. BMI hayvanın ağırlığının (gram cinsinden) nazo-anal uzunluğunun karesine (cm cinsinden) bölünmesi ile hesaplanmaktadır. Yetişkin erkek Wistar sıçanlarına ait BMI 0,45 ile 0,68 g/cm² arasında değişmektedir. Hesaplanan sonuçlar sıçanlarda obezitenin olumsuz sonuçlarını öngörebilir ve obezite ile ilişkili dislipidemi ve oksidatif stresin de bir göstergesidir (Novelli ve ark. 2007).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul İzni

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29/06/2018 tarihli toplantısında almış olduğu 2018/6-1 numaralı karar ile çalışmanın etik kurul izni alındı.

3.2. Gereç

Tüm deneyler için kullanılacak olan araç ve gereçler aşağıda listelenmiştir:

Innova U535 Upright Freezer (New Brunswick Innova, USA)

SL 16 Centrifuge Series (Thermo Scientific™, Ireland)

Etüv ST-120 (Şimşek Labortek, Türkiye)

Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO, Portugal)

Wellwash™ Microplate Washer (Thermo Scientific™, Portugal)

Elga Medica Pro Reverse Osmosis Water Purification System (Elga, Germany)

Model CY-500 Ultrasonic Homogenizers (Optic Ivymen System, Spain)

96-Well Thermal Cycler (Veriti™, USA)

Illumina MiSeq System (MiSeq™ System, USA)

Illumina HiSeq 2500 System (Illumina ,USA)

Coomassie Brilliant Blue G-250'nin (Sigma-Aldrich, USA)

Bovine Serum Albümin (Sigma-Aldrich, USA)

ELISA analizlerinde kullanılan ticari kitlerin katalog numaraları;

LPS, E0756Ra (Bioassay Tecnology Laboratory, United Kingdom)

TNF- α , E-EL-R0019 (Elabscience, USA)

IL-6, E-EL-R0015 (Elabscience, USA)

TLR-4, E-EL-R0990 (Elabscience, USA)

İnsülin, E-EL-R2466 (Elabscience, USA)

Metagenomik analizler için;

MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, USA)

Nextera XT index kiti (Illumina, USA)

GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Purification Kit (EurX, Poland)

Pico488 dsDNA quantification reagent (Lumiprobe Corporation, USA)

Agencourt ampure XP magnetic beads (Beckman Coulter, USA)

Etanol (Merck, Germany)

3.3. Hayvan Modeli

Deney hayvanlarının temini, barındırılması ve bakımları Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada toplam 14 adet wistar albino türü 6-7 haftalık erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar bir hafta adaptasyon süresine tabi tutulduktan sonra rastgele 2 gruba ayrıldı. Deney süresince yem ve suları ad libitum olarak sağlandı. Ayrıca sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde barındırıldı.

Gruplandırma ise aşağıda verildiği şekli ile yapıldı;

Kontrol grubu: 7 sıçan olacak şekilde ticari sıçan diyeti ile (Bil-Yem, Türkiye, 3% yağ, 53% karbonhidrat ve 23% protein) beslendi. Deney sonunda 12. haftada taze dışkı örnekleri toplandıktan sonra sıçanlar anestezi (Ksilazin, Bayer, Türkiye 7 mg/kg ve Ketamin HCl, İnterhas, Türkiye 65 mg/kg) altında kalpten kanları alınarak sakrifiye edildi (Danda ve ark. 2005). Bu işlemten sonra hızlıca sıvı nitrojen üzerinde kolon doku örnekleri alınarak -80 °C'de saklandı. Kalpten alınan kan örnekleri oda ısısında pıhtılaşması için 30 dakika bekletildikten sonra +4 °C'de 15 dk 4000xg'de santrifüj işlemine tabi tutuldu.

Deney grubu: 7 sıçan olacak şekilde yüksek yağlı diyetle (hayvansal iç yağ ilavesi ile % 66,75 yağ, % 2,65 karbonhidrat ve % 22,36 protein) beslendi. Deney sonunda 12. haftada taze dışkı örnekleri toplanarak, sıçanlar anestezi (Xylazine 7 mg/kg ve Ketamin HCl 65 mg/kg) altında kalpten kanları alınarak sakrifiye edildi (Danda ve ark. 2005). Bu işlemten sonra hızlıca sıvı nitrojen üzerinde kolon doku örnekleri alınarak -80 °C'de saklandı. Kalpten alınan kan örnekleri oda ısısında pıhtılaşması için 30 dakika bekletildikten sonra +4 °C'de 15 dk 4000xg'de santrifüj işlemine tabi tutuldu.

3.4. Diyet

Öncelikle çalışmada kullanılacak sıçanların kilo kontrolleri yapılarak gruplar arasında kilo farkı olmaksızın rastgele iki gruba ayrıldı ve bir hafta adaptasyon sürecine tabi tutuldu.

Adaptasyon süresi sonrasında kontrol grubuna ticari diyet ad libitum olarak verildi. Deney grubuna ise iç yağı eritildi, pelet yem ile karıştırıldı ve protein düzeyleri % 22 olacak şekilde et unu ilave edildi (Çizelge 3.1). Yine diyet ad libitum olarak sağlandı. Günlük olarak taze ve temiz su temini tüm deney gruplarına sağlandı. Ticari diyet (2700 kcal) ve yüksek yağlı deney diyeti hayvansal iç yağının daha önceden hesaplanmış olan kalorisi (9020 kcal) göz önüne alınarak günlük enerji yaklaşık 6730 kcal ve % 66,75 yağ içerecek şekilde hazırlandı (Çizelge 3.2). Yemler 5 ila 7 günlük olacak şekilde bir sıçanın tüketeceği yem miktarı göz önüne alınarak taze hazırlandı ve +4°C’de muhafaza edildi (Li ve ark. 2018, Kleinert ve ark. 2018).

Çizelge 3.1. Yüksek yağlı diyet içeriğinde kullanılan hayvansal iç yağı, hayvansal protein kaynağı ve ticari yem besin içerikleri

	100 gr hayvansal iç yağı	100 gr hayvansal protein	100 gr ticari yem
Kalori (kcal)	902 kcal	323,3	260
Kuru madde	100	98,46	88
Karbonhidrat	0,0 g	0	53
Protein	0,0 g	62,41	23
Yağ	100,0 g	16,45	3
Kalsiyum	0,0 mg	5,51	1,0-2,5
Fosfor		1,65	0,9

Çizelge 3.2. Yüksek yağlı diyetin hazırlanışı

Ham madde türü	Miktar (gr)	Kuru madde	Vit-Min Premix	Protein İçeriği (%)	Karbonhidrat İçeriği (%)	Yağ İçeriği (%)	Enerji düzeyi (kcal)
Ticari yem	5	4,25	0,30	1,15	2,65	0,15	13
Protein (Et Unu)	34	33,47	6,66	21,21	-	5,6	109,92
İç yağı	61	61	-	-	-	61	550,22
Toplam	100	98,72	6,96	22,36	2,65	66,75	673,64

3.5. Kilo Kazanımları-Vücut Kondüsyon Skoru-Obezite İndeksi

Lee Index ve BMI Hesaplamaları:

Kilo kazanımları ve nazo-anal uzunlukları haftalık olarak ölçüldü ve kayıt altına alındı. Ayrıca vücut kondüsyon skorları belirlendi ve obezitenin değerlendirilmesinde Lee index hesaplamaları ile birlikte kullanıldı (Stephens 1980, Malafaia ve ark. 2013).

$$BMI = \frac{\text{Vücut Ağırlığı (gr)}}{(\text{Nazo-Anal Uzunluk})^2 (\text{cm}^2)}$$

BMI > 0.68 g / cm² ise obez olarak kabul edildi (Novelli ve ark. 2007).

$$\text{Lee Index} = \frac{(\text{Vücut Ağırlığı})^{1/3} (\text{gr})}{\text{Nazo-Anal Uzunluk (cm)}} \times 1000$$

Lee Index >300 g^{1/3}/cm ise obez olarak kabul edildi (Bernardis ve Patterson 1968, Novelli ve ark. 2007).

3.6. Örneklerin Analizlerinin Yapılması

3.6.1. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizlerin tamamı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Rutin biyokimyasal parametreler otoanalizator ile spektrofotometrik olarak yapılmış ve albümin (ALB), amilaz, inorganik fosfor (IP), total bilirubin (TBİL), kalsiyum (Ca), kolesterol (CHOL), kreatinin (CRE), demir, gama glutamil transferaz (GGT), kan üre nitrojen (BUN), laktat dehidrogenaz (LDH), lipaz, total protein (T Pro), trigliserid (TG), alkalin fosfat (ALP), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve kreatin kinaz (CK) parametreleri için sonuçlar belirlenmiştir.

Ayrıca elde edilen veriler kullanılarak hem Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) hem de Aterojenik indeks (AI) hesaplamaları ve değerlendirilmeleri aşağıdaki gibi yapılmıştır.

HOMA-IR: >2,5 mg/dL insülin direnci olarak kabul edildi (Matthews ve ark. 1985).

$$\text{HOMA-IR (mg/dL)} = [\text{serum açlık insulin (mIU/mL)} \times \text{serum açlık glukoz (mg/dL)}] / 405$$

AI: Aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Dobiášová 2006) ve elde edilen değerlere göre kardiyovasküler hastalık için düşük risk $-0,3$ ila $0,1$, orta dereceli risk $0,1$ ila $0,24$ ve yüksek riski $>0,24$ olarak belirlendi (Nwagha ve ark. 2010).

$$\text{AI: } \log_{10} (\text{TG/HDL-C}).$$

3.6.2. Dışkı ve Kolon Dokusu Örneklerinin Toplanması ve Homojenizasyonu

Çalışmanın sonunda deney grubundaki sıçanların taze dışkı ve distal kolon örnekleri steril plastik tüpler içinde toplanarak 16s rRNA gen dizilemesi ile mikrobiyota analizi için -80°C 'de saklandı.

Dışkı: Farelerden toplanan dışkılar ticari kit prosedürüne uygun olarak öncelikle tartıldı ve daha sonra örnekleri tam olarak parçalamak için buz küveti içerisinde ultrasonik bir homojenizatörle ve PBS ($0,01\text{M}$, $\text{pH}=7,4$) ile homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi (doku ağırlığı (g)/PBS (ml): $1/9$). Homojenatlar daha sonra süpernatantı almak için 5 dakika $10000 \times \text{rpm}$ 'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi.

Kolon dokusu: Kolon örnekleri sakrifiye sonrasında mümkün olan en kısa süre içerisinde buz üzerinde alınarak fizyolojik tuzlu su ile yıkandı ve mukozaya zarar vermeksizin dışkıdan temizlenerek sıvı nitrojen içerisinde taşınarak -80°C 'de saklandı. Daha sonra tartıldı ve örnekleri tam olarak parçalamak için buz küveti içerisinde ultrasonik bir homojenizatör ile PBS ilave edilerek ($0,01\text{M}$, $\text{pH}=7,4$) homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi (doku ağırlığı (g)/PBS (ml): $1/9$). Homojenatlar süpernatantı almak için 5 dakika $10000 \times \text{rpm}$ 'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi.

3.6.3. Bradford (Coomassie Brilliant Blue) Yöntemi ile Total Protein Belirleme

Bradford yönteminde kullanılacak reaktif taze olarak hazırlandı ve süzgeç kağıdından geçirildi. Bradford reaktifi hazırlanırken 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250'nin (CAS 6104-58-1) 50 mL $\%95$ 'lik etanol içinde çözüldükten sonra, $\%85$ 'lik (w/v) fosforik asit eklendi. Oluşan çözelti 1 litre ye seyreltilti. Bradford yönteminin kalibrasyonu yapıldıktan sonra, örnek analiz adımları aşağıda verildiği gibi gerçekleştirildi (Bradford, 1976).

Öncelikle örneklerin uygun dilüsyon oranlarının belirlenmesi için ön deney yapıldı ve serum örnekleri 1/100, doku örnekleri için ise 1/25 dilüsyon oranlarının uygun olduğu farklı sulandırma oranları denenerek belirlendi. Sonrasında her bir örnekten 100 µL alınarak test tüplerine konuldu ve örneklerin üzerine 5 mL Bradford reaktifi eklendi. Diğer taraftan konsantrasyonu bilinen ve protein tayini için yaygın kullanılan bovine serumalbümin kullanılarak standart eğri hazırlamak için 1 mg/mL BSA'nın farklı konsantrasyonları ile seri dilüsyon yapıldı. Bunların üzerine de örneklerle eklendiği gibi 5 mL Bradford boyası eklendi. Tüplerden birine yalnızca distile su ilave edilerek kör tüpüne karşı standart tüplerin absorbanslarını kullanarak standart eğri oluşturuldu. Standart eğri oluşturmak için 5 konsantrasyon belirlendi (1-0,5-0,25-0,125-0,0625). Tüplerin tamamı vorteks ile karıştırılarak boya ile örneklerin karışması sağlandı. Beş dakika beklendikten sonra, spektrofotometrik yöntemle 595 nm'de ölçüm yapıldı.

Eğri oluşturulurken X eksenine BSA konsantrasyonu, Y eksenine ise 595 nm'de elde edilen absorbanslar yazıldı. Elde edilen absorbans değerleri $y=ax+b$ denklemi kullanılarak örneklerin Bradford yöntemine göre total protein konsantrasyonlarının hesaplamaları yapıldı.

3.6.4. Kolon Dokusunda IL-6, TNF- α , TLR-4 ve LPS Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışmanın sonunda yukarıda detayları verilen şekilde homojenizasyon işlemine tabi tutulan kolon doku homojenizatlarında Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) analizleri kit prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Örneklerden ELISA işleminin gerçekleştirilmesi;

ELISA yöntemi ile serum örneklerinde TNF- α , IL-6, TLR4, LPS ve İnsülin, doku örneklerinde TNF- α , IL-6, TLR4 ve LPS, dışkı örneklerinde ise yalnızca LPS analizleri yapıldı.

Öncelikle homojenize edilen doku ve dışkı örnekleri ile serum örnekleri oda ısısına getirildi. Daha sonra tüm örneklerden ELISA kit protokolü uygulanarak gerçekleştirildi. İşlemlerin sonucunda tüm hesaplamalar Curve Expert 1.4 programından elde edilen standartlara uygun grafikler üzerinde yapılmıştır (Zhao ve ark. 2017).

Dışkı ve Serum LPS düzeylerinin belirlenmesi;

Kalpten alınan tam kanın oda ısısında pıhtılaşması için 1 saat bekletildikten sonra +4 °C'de 15 dk 4.000 x rpm santrifüj işlemine tabi tutularak elde edildi ve tüm biyokimya ve ELISA analizleri için kit prosedürüne uygun olarak kullanıldı.

İşlemlerin sonucunda tüm hesaplamalar Curve Expert 1.4 programından elde edilen standartlara uygun grafikler üzerinde yapıldı (Zhao ve ark. 2017).

3.6.5. Mikrobiyota Analizi

Çalışmanın örneklerinden mikrobiyota analizleri ve tüm basamakları MacroGen Europe B.V.'de hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Distal kolonun dışkıdan arındırılarak alınan bir santimetrelilik bölümü ve taze dışkı örnekleri direk olarak non-projen polietilen tüplere konularak sıvı nitrojenle (azot) taşındı ve -80 ° C'de daha fazla işlem yapılmıyca kadar depolandı.

Örneklerin Hazırlanması

Kütüphane oluşturmak için örneklerden DNA izolasyonu ve kalite kontrolü yapıldı. Kütüphane oluşturulumu sırasında, 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesi spesifik primerler ile çoğaltılarak saflaştırma işlemi yapıldı. Index PCR aşamasında, illumina ikili indeksler ve adaptörler Nextera XT index kiti kullanılarak eklendi ve sonra saflaştırma yapıldı. Real time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile oluşturulan kütüphanelerin konsantrasyonu ölçülerek 4nM'a seyreltilip normalizasyonu yapıldı. Normalizasyonu yapılmış olan örnekler havuzlama (pooling) yöntemi ile birleştirildi.

DNA İzolasyonu ve DNA Kalite Ölçümü

Örneklerin DNA izolasyonu, EurX GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Pürifikasyon kiti kullanılarak, üretici firmanın prosedürüyle gerçekleştirildi.

Metagenom çalışmaları için örneklerin DNA miktarı ve kalitesi belli standartlara uygundu ve DNA miktar tespiti, floresan temelli çift zincirli Picogreen boyası kullanılarak, Victor 3 florometre cihazında gerçekleştirildi. Picogreen boyası sadece çift zincirli

DNA'ya bağlanmakta ve genomik DNA dışında, normal spektroskopik metodlarda konsantrasyonun normalden fazla görünmesine yol açan RNA kalıntıları veya diğer kontaminantlar Picogreen ile etkileşmediğinden daha doğru sonuçlar elde edilmektedir. Dokudan elde edilen DNA örnekleri için beklenen konsantrasyon 50 ng/μL olarak belirlendi ve DNA konsantrasyonu 1 ng/μL'den az olması durumunda DNA izolasyonu tekrar edildi.

DNA izolasyonundan sonraki aşamalar aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

1) PCR

Tür tespitinde en sık kullanılan değişken bölge, 16S rRNA geninin V3 ve V4 bölgeleri olduğundan, V3 ve V4 bölgelerinin çoğaltılması için kullanılacak ileri ve geri yönlü primer dizileri aşağıdaki gibiydi. Bu primer çifti yaklaşık 460 bazlık bir bölgeyi çoğalttı. Yeni nesil dizileme okumasından önce, amplikon kütüphanesi hazırlığı sırasında PCR ile örnekteki 16S V3 ve V4 bölgeleri çoğaltıldı.

16S Amplicon PCR Forward Primer:

5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG 3'

16S Amplicon PCR Reverse Primer:

5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC3'

PCR koşulları ve kullanılacak malzemeler

Kullanılacak Malzemeler	Hacim
Microbial DNA (5 ng/μl)	2,5 μl
Forward Primer 1 μM	5 μl
Reverse Primer 1 μM	5 μl
2X KAPA HotStart PCR Mix	12,5 μl
TOPLAM	25 μl

PCR koşulları

PCR Koşulları	
1) 95 ° C’de 3 dakika	
2) Takip eden 25 döngü için	95 ° C’de 30 saniye 55 ° C’de 30 saniye 72 ° C’de 30 saniye
3) 72 ° C’de 5 dakika	
4) 4 ° C’de örnekler saklandı	

2) *PCR Ürünü Temizliği*

AMPure XP manyetik boncuklar kullanılarak, iki adımda primer dimerler ve serbest primerler uzaklaştırıldı.

a) İlk adımda, her örneğe 20 mikrolitre AMPure XP manyetik boncuk eklenerek pipetlendi. Manyetik stand kullanılarak istenilen PCR ürünlerinin manyetik boncuklara tutunması sağlandı.

b) Kontaminasyonu önlemek için, 200 mikrolitre %80’lik etanol ile manyetik boncuk ekli örnekler 2 kere yıkandı ve sonra saf PCR ürünü, 50 mikrolitre 10 Mm pH 8,5 Tris solüsyonunda saklandı.

3) *İndeks PCR*

PCR ürünlerine, yeni nesil dizileme okuması sırasında farklı örneklerin ayırt edilebilmesi ve birden fazla örneğin tek okumada sonuç verebilmesi için “indeks barkod” görevi gören özel baz dizileri ve PCR ürünlerinin yeni nesil dizileme cihazındaki özel oligo bağlanma bölgelerine tutunabilmesini sağlayan “adaptör” dizileri eklendi. Nextera XT indeks kiti kullanılarak yapılan bu işlemde her örneğe 2 indeks barkod bölgesi, aşağıdaki kısa PCR koşullarında bağlandı.

PCR koşulları ve kullanılacak malzemeler

Kullanılacak Malzemeler	Hacim
DNA	5 µl
Nextera XT İndeks Primer 1(N7xx)	5 µl
Nextera XT İndeks Primer 2 (S5xx)	5 µl
2X KAPA HotStart PCR Mix	25 µl
Su	10 µl
TOPLAM	50 µl

PCR Koşulları
1) 95 ° C’de 3 dakika
2) Takip eden 8 döngü için
95 ° C’de 30 saniye
55 ° C’de 30 saniye
72 ° C’de 30 saniye
3) 72 ° C’de 5 dakika
4) 4 ° C’de örnekler saklanır

4) PCR Ürünü Temizliği 2

AMPure XP manyetik boncuklar kullanılarak, primer dimerler ve serbest primerler iki adımda uzaklaştırıldı.

a) İlk adımda, her örneğe 56 mikrolitre AMPure XP manyetik boncuk eklenerek ve pipetlendi. Manyetik stand kullanılarak istenilen PCR ürünlerinin manyetik boncuklara tutunması sağlandı.

b) Kontaminasyonu önlemek için, 200 mikrolitre % 80’lik etanol ile manyetik boncuk ekli örnekler 2 kere yıkandıktan sonra saf PCR ürünü, 25 mikrolitre 10 mM pH 8,5 Tris solüsyonunda saklandı.

5) *Kütüphane Miktar Tayini, Normalizasyon ve Birleştirilmesi*

Illumina MiSeq cihazından yüksek kalitede veri elde etmek için, cihazdaki her akışkan hücre üzerinde optimum kümelenmeyi sağlamak gerekmektedir. Bu amaçla kütüphane miktar tayininin daha hassas tespitini sağlamak için spektroskopi yerine Real Time PCR tekniğiyle oluşturulan kütüphanelerin kantifikasyonu yapıldı.

Kütüphanelerin birleştirilmeden önce eşit oranda temsili için normalizasyon aşaması, manyetik boncuklar kullanılarak gerçekleştirildi. Böylece manyetik boncukların kütüphaneye tutunma kapasitesi benzer olduğundan, her örnek, kütüphaneler birleştirilince eşit oranda temsil edildi.

6) *MiSeq Okuması*

HiSeq cihazında, birleştirilmiş kütüphane akış hücresine (flow cell) eklendi. Akış hücresi içinde, yüzeye yapışık halde bulunan oligolar, kütüphanedeki adaptör dizilerine tamamlayıcı dizilerdir. Köprü amplifikasyonu her fragment, ayrı ve klonlanmış kümeler halinde çoğalır kümelenme bittikten sonra, kalıp DNA dizilenmeye hazır hale gelir.

Illumina'nın "Sequencing by Synthesis" teknolojisi ile her baz, dizileme sırasında DNA kalıbı üzerinde eklenirken tespit edilmiştir. Dizilemede özel tersinir ve terminatör bağlı dNTP'ler kullanılmış ve bu dNTP'ler her dizileme döngüsünde özel kimyasal yapılarından dolayı hata payını ve yanlış baz eklenme olasılığını azaltmıştır. Böylece elde edilen sonuç, her bazda yüksek doğruluğa sahip olmuştur.

Aynı zamanda, kalıp DNA üzerindeki tekrar eden bölgeler ya da homopolimer DNA dizileri, diğer dizileme tekniklerinde yanlış okumalara ya da okumanın bu noktalarda bitmesine yol açmasına rağmen Sequencing by Synthesis teknolojisi ve bu özel dNTP'ler sayesinde homopolimer DNA dizileri ya da tekrar bölgelerini sıkıntısız okumuştur.

7) *Okuma Sonuçları ve Analizi*

Illumina HiSeq cihazı, MiSeq Control Software v2.2 programıyla okuma görüntülerini işlendi ve Real Time Analysis. v1.18 programı kullanılarak bazlar tayinedildi. Baz okumaları bcl2fastq (v1.8.4) programıyla FASTQ formatına çevrildi.

Okuma sonuçlarından spesifik olmayan adaptör dizilerini çıkartmak için Scythe (v0.994 BETA) ve Sickle programları kullanıldı. 36 Bazdan kısa okuma sonuçları, temiz bir veri analizi için çıkartıldı.

Biyoinformatik analizle örneklerin taksonomik olarak sınıflandırılması, referans dizilere göre hizalanması, operasyonel taksonomik birim tespiti ve türlerin benzerliklerine göre gruplandırılması gerçekleştirildi.

3. 7. İstatistiksel Analizler

Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmeler için Windows SPSS 22,0 paket programı kullanıldı. Tüm parametrelere nonparametrik bağımsız t-testi olan Mann-Whitney U testi uygulandı ve $p < 0,05$ için önemli kabul edildi. Çizelgeler ortalamalar ile birlikte standart sapma ($\text{mean} \pm \text{SD}$), Median (Min-Max) ile Mann-Whitney U değeri ve bununla ilişkili Asymp. Sig (2-tailed) değeri p değeri ($p < 0,05$ için önemli) olarak kabul edilerek oluşturuldu.

4. BULGULAR

4.1. Fiziksel Bulguların Değerlendirilmesi

4.1.1. Vücut Ağırlıkları

Çalışmada kullanılan ve 12 hafta beslenen 14 adet wistar albino türü rat için vücut ağırlıklarının değişimleri 7. Haftadan itibaren deney grubunda kontrole göre artma eğiliminde olmasına rağmen istatistiki olarak fark anlamlı değildi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Haftalık Vücut Ağırlıkları Değişimleri

Vücut ağırlıkları (KG)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	197,14±23,40 ^a	192 (162-232)	21,000	,654
	Deney	7	203,71±15,83 ^a	204 (185-225)		
2	Kontrol	7	245,57±31,97 ^b	243 (205-300)	20,500	,608
	Deney	7	239,00±12,54 ^b	233 (228-258)		
3	Kontrol	7	252,57±33,21 ^b	243 (212-300)	21,000	,655
	Deney	7	261,14±13,96 ^b	260 (237-280)		
4	Kontrol	7	318,71±33,35 ^c	319 (274-364)	23,000	,848
	Deney	7	316,86±35,13 ^c	329 (248-351)		
5	Kontrol	7	319,86±30,26 ^c	319 (278-355)	23,000	,847
	Deney	7	322,29±34,67 ^{cd}	330 (271-365)		
6	Kontrol	7	346,71±45,57 ^{cd}	350 (277-397)	20,500	,608
	Deney	7	341,57±35,56 ^{cde}	336 (302-385)		
7	Kontrol	7	343,14±36,07 ^{cd}	330 (295-395)	19,000	,482
	Deney	7	353,86±30,22 ^{de}	352 (310-393)		
8	Kontrol	7	365,57±26,60 ^{de}	354 (335-395)	19,500	,521
	Deney	7	374,71±27,94 ^{ef}	387 (335-407)		
9	Kontrol	7	393,29±15,47 ^{ef}	390 (376-413)	19,000	,480
	Deney	7	405,57±29,29 ^{fg}	420 (372-445)		
10	Kontrol	7	404,86±16,73 ^{fg}	413 (386-427)	19,000	,482
	Deney	7	424,43±37,01 ^{gh}	418 (381-468)		
11	Kontrol	7	425,29±6,99 ^{gh}	424 (418-437)	21,000	,654
	Deney	7	441,71±34,41 ^{hi}	447 (402-479)		
12	Kontrol	7	455,71±10,42 ^{hi}	461 (435-464)	20,500	,608
	Deney	7	471,29±38,36 ^{jk}	463 (430-525)		
13	Kontrol	7	448,86±10,38 ⁱ	450 (436-465)	11,000	,085
	Deney	7	480,43±37,93 ^k	463 (432-540)		

Kontrol ve deney grubu için aynı sütundaki (a,b,c,d,e,f,g,h,i,k) farklı harfler istatistiki olarak önemlidir (P<0,05).

4.1.2. Nazo-anal Uzunluk

Nazo-anal uzunlukların haftalık değişimleri ele alındığında deney ve kontrol grubunda kontrole grubu arasında herhangi bir fark yoktu (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Haftalık Nazo-anal Uzunluklar

Nazoanaluzunluk (cm)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	19,29±0,81 ^a	19 (18-20,5)	17,500	,348
	Deney	7	19,64±0,48 ^a	20 (19-20)		
2	Kontrol	7	20,50±1,00 ^b	20 (19-20,5)	23,500	,893
	Deney	7	20,50±0,50 ^b	20,5 (20-21)		
3	Kontrol	7	21,29±1,11 ^b	21,5 (20-22,5)	21,500	,694
	Deney	7	21,64±0,48 ^c	22 (21-22)		
4	Kontrol	7	22,79±1,11 ^c	22,5 (21,5-24,5)	24,500	1,000
	Deney	7	22,64±0,69 ^d	23 (21,5-23,5)		
5	Kontrol	7	23,21±0,95 ^{cd}	23,5 (22-24,5)	20,500	,594
	Deney	7	23,00±0,76 ^{de}	23,5 (21,5-23,5)		
6	Kontrol	7	23,43±0,93 ^{cd}	24 (22-24,5)	19,500	,509
	Deney	7	23,29±0,81 ^{def}	23,5 (21,5-24)		
7	Kontrol	7	23,50±0,87 ^{cde}	24 (22-24,5)	22,000	,741
	Deney	7	23,50±0,50 ^{efgh}	23,5 (22,5-24)		
8	Kontrol	7	23,64±0,63 ^{cde}	24 (23-24,5)	21,500	,686
	Deney	7	23,79±0,49 ^{fgh}	24 (23-24,5)		
9	Kontrol	7	23,64±0,63 ^{cde}	24 (23-24,5)	11,500	,090
	Deney	7	24,07±0,79 ^{gik}	24 (23-25,5)		
10	Kontrol	7	23,79±0,57 ^e	24 (23-24,5)	20,500	,583
	Deney	7	24,36±0,75 ^{hik}	24,5 (23,5-25,5)		
11	Kontrol	7	24,43±0,61 ^{ef}	24,5 (23,5-25)	24,500	1,000
	Deney	7	24,43±0,73 ^{ik}	24 (23,5-25,5)		
12	Kontrol	7	24,86±0,38 ^f	25 (24,5-25,5)	17,000	,319
	Deney	7	24,57±0,61 ^{ik}	24,5 (24-25,5)		
13	Kontrol	7	25,07±0,35 ^f	25 (24,5-25,5)	22,000	,709
	Deney	7	25,00±0,58 ^k	25 (24-26)		

Kontrol ve deney grubu için aynı sütundaki (a,b,c,d,e,f,g,h,i,k) farklı harfler istatistiki olarak önemlidir (P<0,05).

4.1.3. BMI Değişimleri

7. haftada değişen vücut ağırlıkları ile uyumlu olarak BMI değişimleri de belirlendi. Bu değişimler son iki haftada deney grubunda yükselmiş ve istatistiki olarak anlamlıydı (p<0,05) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Haftalık BMI Değişimleri (p<0,05 için önemlidir)

BMI (kg/cm ²)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	0,53±0,03	0,52 (0,50-0,58)	24,500	1,000
	Deney	7	0,53±0,03	0,51 (0,49-,58)		
2	Kontrol	7	0,58±0,04	0,57 (0,54-0,65)	21,500	0,697
	Deney	7	0,57±0,03	0,57(0,52-0,61)		
3	Kontrol	7	0,55±0,03	0,55 (0,51-0,59)	22,000	0,747
	Deney	7	0,56±0,02	0,56 (0,53-0,58)		
4	Kontrol	7	0,61±0,04	0,60 (0,58-0,71)	14,000	0,175
	Deney	7	0,62±0,04	0,62 (0,54-0,66)		

Çizelge 4.3. (devam) Haftalık BMI Değişimleri

5	Kontrol	7	0,59±0,02	0,59 (0,57-0,63)	18,000	0,397
	Deney	7	0,61±0,03	0,60 (0,57-0,66)		
6	Kontrol	7	0,64±0,05	0,63 (0,57-0,72)	23,500	0,898
	Deney	7	0,63±0,06	0,64 (0,55-0,70)		
7	Kontrol	7	0,63±0,03	0,65 (0,57-0,66)	19,500	0,518
	Deney	7	0,64±0,04	0,64 (0,59-0,68)		
8	Kontrol	7	0,65±0,03	0,65 (0,62-0,69)	21,500	0,698
	Deney	7	0,66±0,03	0,67 (0,63-0,69)		
9	Kontrol	7	0,70±0,03	0,71 (0,66-0,74)	14,000	0,177
	Deney	7	0,68±0,03	0,67 (0,65-0,74)		
10	Kontrol	7	0,72±0,03	0,72 (0,67-0,74)	20,500	0,606
	Deney	7	0,73±0,04	0,73 (0,69-0,79)		
11	Kontrol	7	0,71±0,03	0,72 (0,67-0,77)	15,000	0,221
	Deney	7	0,74±0,03	0,73 (0,71-0,78)		
12	Kontrol	7	0,74±0,03	0,74 (0,69-0,77)	5,500	0,014
	Deney	7	0,78±0,03	0,77 (0,75-0,81)		
13	Kontrol	7	0,71±0,03	0,72 (0,67-0,74)	7,500	0,028
	Deney	7	0,77±0,05	0,79 (0,69-0,81)		

4.1.4. Lee Index Değişimleri

7. haftada değişen vücut ağırlıkları ve BMI değişimlerine benzer şekilde Lee Indexleri deney grubunda artış eğilimindeydi. Bu artışlar son iki haftada deney grubunda istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Haftalık Lee Index Değişimleri ($p<0,05$ için önemlidir).

Lee Index ($g^{1/3}/cm$)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	301,57±5,26	303 (292-308)	19,000	0,480
	Deney	7	299,57±5,80	300 (292-308)		
2	Kontrol	7	305,43±7,21	308 (296-313)	20,500	0,608
	Deney	7	302,86±7,15	303 (291-313)		
3	Kontrol	7	295,43±6,08	297 (287-302)	23,000	0,847
	Deney	7	295,29±5,02	295 (288-302)		
4	Kontrol	7	299,57±9,69	297 (290-319)	21,500	0,700
	Deney	7	298,71±5,65	300 (291-307)		
5	Kontrol	7	297,29±4,03	297 (291-304)	21,500	0,700
	Deney	7	298,57±5,41	299 (292-306)		
6	Kontrol	7	299,43±4,39	300 (294-304)	22,500	0,798
	Deney	7	299,71±10,55	298 (286-312)		
7	Kontrol	7	297,71±4,75	299 (288-303)	13,000	0,140
	Deney	7	300,71±4,68	301 (292-306)		
8	Kontrol	7	302,71±3,64	305 (296-306)	23,500	0,896
	Deney	7	303,14±2,34	302 (300-307)		
9	Kontrol	7	310,00±6,08	310 (302-318)	10,500	0,073
	Deney	7	303,86±6,12	306 (294-312)		
10	Kontrol	7	311,14±5,70	311 (303-318)	22,500	0,797
	Deney	7	312,29±6,05	312 (303-320)		

Çizelge 4.4. (devam) Haftalık Lee Index Değişimleri

11	Kontrol	7	308,29±7,14	309 (300-320)	15,500	0,248
	Deney	7	311,71±4,39	312 (305-319)		
12	Kontrol	7	309,57±5,06	309 (300-316)	2,500	0,004
	Deney	7	316,57±1,13	316 (315-318)		
13	Kontrol	7	305,43±5,22	307 (296-312)	8,500	0,041
	Deney	7	313,00±6,53	313 (302-320)		

4.2 Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi

4.2.1. Açlık Kan Glukoz Düzeyleri

15 gün aralıklar ile 8-12 saatlik açlık sonrası hızlı glukoz test stripleri ile yapılan glukoz ölçümleri Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Kan glukoz değerleri üçüncü haftadan 12. haftaya kadar deney grubunda kontrol grubuna göre artış gösterdi ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Çizelge 4.5. 15 günlük Açlık Kan Glukoz Değişimleri ($p<0,05$ için önemlidir).

Açlık şekeri (mg/dL)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	112,00±14,62	105 (100-140)	23,000	0,848
	Deney	7	118,8±32,18	111 (82-173)		
3	Kontrol	7	106,57±9,02	108 (89-116)	5,000	0,013
	Deney	7	128,00±17,78	121 (109-154)		
5	Kontrol	7	101,57±5,65	99 (96-110)	4,500	0,010
	Deney	7	120,14±11,89	125 (100-131)		
7	Kontrol	7	107,29±11,57	111 (84-119)	2,500	0,005
	Deney	7	125,43±8,08	129 (113-135)		
9	Kontrol	7	104,57±10,55	103 (92-120)	6,000	0,018
	Deney	7	120,57±8,46	120 (107-133)		
11	Kontrol	7	93,43±16,48	88 (75-116)	5,000	0,013
	Deney	7	116,29±11,56	117 (98-136)		
13	Kontrol	7	94,71±20,67	98 (68-125)	9,000	0,047
	Deney	7	114,71±10,16	118 (95-128)		

4.2.2. Tokluk Kan Glukoz Düzeyleri

15 gün aralıklar ile 8-12 saatlik açlık sonrası hızlı glukoz test stripleri ile yapılan glukoz ölçümleri sonrası sıçanlara ad libitum yem verildi ve iki saat sonra tokluk kan glukoz düzeyleri yine hızlı test stripleri ile bakıldı. Tokluk glukoz düzeyleri Çizelge 4.6’da gösterildiği gibi deney ve kontrol grubu arasında fark yok idi.

Çizelge 4.6. 15 günlük Tokluk Kan Glukoz Değişimleri (p<0,05 için önemlidir).

Tokluk Şeker (mg/dL)						
Haftalar	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
1	Kontrol	7	137,43±8,34	140 (123-148)	24,500	1,000
	Deney	7	132,86±15,86	135 (100-145)		
3	Kontrol	7	131,86±19,52	140 (95-153)	23,000	0,848
	Deney	7	130,14±16,51	131 (109-154)		
5	Kontrol	7	136,00±10,94	135 (123-152)	12,000	0,110
	Deney	7	125,86±15,91	122 (107-147)		
7	Kontrol	7	121,00±8,60	123 (107-129)	14,000	0,179
	Deney	7	127,71±10,45	131 (114-142)		
9	Kontrol	7	120,29±17,90	122 (89-148)	21,000	0,654
	Deney	7	117,57±15,62	117 (89-138)		
11	Kontrol	7	115,57±8,28	118 (102-126)	23,000	0,848
	Deney	7	113,57±11,41	112 (97-132)		

4.2.3. Diğer Serum Biyokimyasal Parametrelerindeki Değişimler

Alınan serum örneklerinden ALB, amilaz, IP, TBİL, Ca, CHOL, CRE, demir, GGT, BUN, LDH, lipaz, T Pro, TG, ALP, HDL ve CK analizleri otoanalizatörde yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.7’de verildi.

Albümin, IP, T Bil, Ca, CHOL, Cre, demir, GGT, LDH, lipaz ve CK kontrol ve deney grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında amilaz, TRİG, ALP değerleri deney grubunda yüksekti (Çizelge 4.7) ve istatistiki olarak anlamlı idi (p<0,01). Deney grubunda ise BUN, T Pro ve HDL kontrol grubundan daha düşük ve anlamlı idi (p<0,01).

Biyokimyasal sonuçlar kullanılarak yapılan HOMA-IR hesaplamasının sonuçlarına bakıldığında ise kontrol ve deney grubunda fark yoktu. Ancak AI hesaplamasında deney grubu kontrol grubuna göre daha yüksek (Çizelge 4.8) ve istatistiki olarak anlamlı idi (p<0,01).

Çizelge 4.7. Kontrol ve Deney Grubu Biyokimyasal Analizlerin Karşılaştırılması (p<0,05 için önemlidir).

Biyokimya						
	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ALB (g/dL)	Kontrol	7	3,40±,09	3,39 (3,27-3,53)	14,000	0,180
	Deney	7	3,31±,14	3,28 (3,17-3,57)		
AMİLAZ (U/L)	Kontrol	7	1423,86±59,70	1447 (1319-1483)	0,000	0,002
	Deney	7	1829,43±118,05	1866 (1640-1980)		

Çizelge 4.7.(devam) Kontrol ve Deney Grubu Biyokimyasal Analizlerin Karşılaştırılması

IP (mg/dL)	Kontrol	7	7,59±0,70	7,70 (6,30-8,40)	11,500	0,094
	Deney	7	8,13±0,35	8,30 (7,40-8,40)		
TBİL (mg/dL)	Kontrol	7	0,06±0,01	,060 (0,05-0,08)	14,500	0,181
	Deney	7	0,05±0,02	,040 (,03-,08)		
Ca (mg/dL)	Kontrol	7	10,41±0,20	10,430 (10,10-1065)	10,000	0,063
	Deney	7	10,20±0,19	10,28 (9,84-10,38)		
CHOL (mg/dL)	Kontrol	7	39,14±5,05	36 (34-47)	22,000	0,746
	Deney	7	39,29±5,09	40 (31-46)		
CRE (mg/dL)	Kontrol	7	0,34±0,02	0,340 (0,30-0,34)	11,500	0,093
	Deney	7	0,38±0,06	0,36 (0,32-0,49)		
Demir (ug/dL)	Kontrol	7	166,00±24,50	178 (129-188)	13,000	0,141
	Deney	7	148,14±9,28	150 (134-160)		
GGT (U/L)	Kontrol	7	3,43±0,54	3 (3-4)	11,500	0,072
	Deney	7	2,57±0,98	3 (1-4)		
BUN (mg/dL)	Kontrol	7	20,59±3,58	19,70 (16,70-28,20)	0,000	0,002
	Deney	7	11,16±0,96	10,90 (10,00-12,90)		
LDH (U/L)	Kontrol	7	803,14±164,47	822 (603-1056)	18,000	0,406
	Deney	7	735,86±212,24	610 (536-1101)		
LİPAZ (U/L)	Kontrol	7	10,86±0,69	11 (10-12)	19,000	0,431
	Deney	7	11,14±0,69	11 (10-12)		
TPro (g/dL)	Kontrol	7	6,32±0,24	6,160 (6,12-6,69)	0,000	0,002
	Deney	7	5,71±0,22	5,81 (5,42-5,96)		
TG (mg/dL)	Kontrol	7	37,00±9,04	40 (19-47)	3,500	0,007
	Deney	7	58,57±12,52	58 (41-73)		
ALP (U/L)	Kontrol	7	81,29±10,36	82 (67-97)	0,000	0,002
	Deney	7	202,43±125,70	138 (113-473)		
HDL (mg/dL)	Kontrol	7	25,84±4,48	24,30 (21,4-34)	2,000	0,004
	Deney	7	18,63±3,05	17,50 (14,30-22,10)		
CK (U/L)	Kontrol	7	609,16±78,51	608,47 (519,38-733,65)	12,000	0,110
	Deney	7	932,18±367,23	903,13 (514,89-1532,87)		
AST/ALT	Kontrol	7	2,24±0,46	2,030 (1,90-3,16)	1,000	0,003
	Deney	7	3,75±0,70	3,730 (2,55-4,91)		

Çizelge 4.8. Kontrol ve Deney Grubu HOMA-IR ve AI (p<0,05 için önemlidir).

	Gruplar	N	Mean± SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
HOMA-IR (mg/dL)	Kontrol	7	1,07±0,31	0,95 (079-1,69)	16,000	0,277
	Deney	7	1,23±0,43	1,16 (0,94-2,17)		
AI	Kontrol	7	0,18±0,01	0,21 (0,0-0,28)	0,000	0,002
	Deney	7	0,49±0,14	0,48 (0,32-0,71)		

4.2.4. Serum ve Doku Örneklerinde ELISA Analizleri

Serum ve doku örneklerinde yapılan ELISA sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir. Serum TNF- α , IL-6 ve kolon dokusunda TLR4, LPS ve T Pro düzeyleri kontrol ve deney grubunda benzer bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığımızda serum örneklerinde TLR4 ($p<0,05$), LPS, insülin düzeyleri deney grubunda artmış total protein ise azalmış ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$).

Kolon dokusunda deney grubunda TNF- α ve IL-6 anlamlı düzeyde arttı ($p<0,01$). Dışkı LPS düzeylerinde de benzer şekilde deney grubunda istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış vardı ($p<0,01$).

Çizelge 4.9. Doku-Seum ve Dışkı ELISA Analiz Sonuçları ($p<0,05$ için önemlidir).

ELISA						
	Gruplar	N	Mean $\pm$ SD	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
Serum						
TNF- α (pg/mL)	Kontrol	7	251,31 $\pm$ 4,31	252,31 (246,03-257,54)	13,500	0,159
	Deney	7	254,97 $\pm$ 4,28	254,57 (249,52-261,03)		
IL-6 (pg/mL)	Kontrol	7	8,37 $\pm$ 0,08	8,35 (8,30-8,53)	18,500	0,437
	Deney	7	8,33 $\pm$ 0,03	8,34 (8,27-8,37)		
TLR4 (ng/mL)	Kontrol	7	0,46 $\pm$ 0,10	,4430 (,34-,63)	8,000	0,035
	Deney	7	0,63 $\pm$ 0,17	,596 (,48-,98)		
LPS (EU/L)	Kontrol	7	8,30 $\pm$ 4,48	6,40 (3,47-14,51)	3,000	0,006
	Deney	7	23,12 $\pm$ 12,18	18,29 (8,73-42,35)		
İNSÜLİN (ng/mL)	Kontrol	7	0,19 $\pm$ 0,03	,181 (,15-,22)	2,000	0,004
	Deney	7	0,26 $\pm$ 0,06	,229 (,21-,40)		
Doku						
D-TNF- α (pg/mL)	Kontrol	7	315,58 $\pm$ 52,65	283,35 (266,78-397,40)	0,000	0,002
	Deney	7	1191,88 $\pm$ 484,75	1087,10 (571,96-1905,32)		
D-IL-6 (pg/mL)	Kontrol	7	9,69 $\pm$ 0,95	9,28 (8,88-11,4)	2,000	0,004
	Deney	7	14,66 $\pm$ 3,99	13,28 (10,79-21,17)		
D-TLR4 (ng/mL)	Kontrol	7	2,49 $\pm$ 0,72	2,55 (1,49-3,85)	12,000	0,110
	Deney	7	4,04 $\pm$ 1,93	3,5180(1,99-7,73)		
D-LPS (EU/L)	Kontrol	7	11,85 $\pm$ 3,38	13,73 (7,33-15,07)	22,500	0,798
	Deney	7	16,93 $\pm$ 11,60	13,70 (6,43-39,87)		
D-TPro (mg/mL)	Kontrol	7	6,63 $\pm$ 2,30	7,30 (3,38-9,25)	18,000	0,406
	Deney	7	5,61 $\pm$ 1,71	5,325 (3,40-8,50)		

Çizelge 4.9. (devam) Doku-Seum ve Dışkı ELISA Analiz Sonuçları

Dışkı						
Dışkı-LPS (EU/L)	Kontrol	7	17,06±4,60	18,43 (10,14-22,8)	2,000	0,004
	Deney	7	33,52±15,08	26,06 (21,02-56,78)		

4.3. Dışkı ve Kolon Mikrobiyotasının Değerlendirilmesi

Dışkı ve kolonik mukoza mikrobiyotası alem, şube (filum), sınıf, takım, aile, cins ve tür bakımından metogenom çalışmaları yapıldı. Yüzdeler üzerinden Çizelge oluşturularak $p<0,05$ için istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

4.3.1. Alem Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Alem seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda arkea yüzdesi, deney grubunda ise bakteri yüzdesi daha yüksek (Çizelge 4.10) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$).

Çizelge 4.10. Alem Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Alem Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
Arkea	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77 (2,25-73,11)	0,000	0,002
	Deney	7	0,01±0,02	0 (0-0,05)		
Bakteri	Gruplar					
	Kontrol	7	78,51±26,82	88,23 (26,89-97,75)	0,000	0,002
	Deney	7	99,99±0,02	100 (99,95-100)		

Alem seviyesinde kolon mikrobiyotası ise kontrol ve deney grubunda benzer olarak belirlendi (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Alem Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Alem Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
Arkea	Kontrol	7	0,0097±0,017	0,00(0,0-0,04)	17,5	0,322
	Deney	7	0,0321±0,046	0,0125 (0,00-0,10)		
Bacteria	Gruplar					
	Kontrol	7	99,99±0,02	100 (99,96-100)	17,5	0,322
	Deney	7	99,97±0,05	99,99 (99,90-100)		

4.3.2. Şube (Filum) Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Filum seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda *Euryarchaeota* ($p<0,01$) ve *Fibrobacteres* ($p<0,05$) yüzdesi deney grubundan yüksek, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* yüzdeleri ise deney grubunda kontrol grubundan daha yüksek (Çizelge 4.12) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Çizelge 4.12. Şube (Filum) Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Şube Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>Euryarchaeota</i>	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77 (2,25-73,11)	0,000	0,002
	Deney	7	,0095±0,019	0,0 (0,0-0,05)		
<i>Acidobacteria</i>	Kontrol	7	0	0	21,000	1,000
	Deney	7	0	0		
<i>Actinobacteria</i>	Kontrol	7	1,34±1,11	1,20 (0,14-3,37)	11,000	0,153
	Deney	7	0,56±0,45	0,34 (0,00-1,23)		
<i>Bacteroidetes</i>	Kontrol	7	7,68±5,85	9,27 (0-14,10)	3,000	0,010
	Deney	7	20,33±6,55	21,04(10,45-28,33)		
<i>Chlamydiae</i>	Kontrol	7	0,01±0,02	0,00 (0,00-0,03)	16,000	0,334
	Deney	7	0,00±0,01	0,00 (0,00-0,02)		
<i>Chloroflexi</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			
<i>Cyanobacteria</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			
<i>Deferribacteres</i>	Kontrol	7	0		12,000	0,082
	Deney	7	0,08±0,12	0,00 (0,00-0,30)		
<i>Deinococcus Thermus</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			
<i>Fibrobacteres</i>	Kontrol	7	0,56±0,69	0,35 (0-1,78)	3,500	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Firmicutes</i>	Kontrol	7	65,58±24,81	69,99 (21,59-94,79)	19,000	0,775
	Deney	7	71,98±9,36	73,44 (61,37-85,61)		
<i>Fusobacteria</i>	Kontrol	7	0		18,000	0,355
	Deney	7	0,01±0,02	0,00 (0,00-0,05)		
<i>Planctomycetes</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			
<i>Proteobacteria</i>	Kontrol	7	3,13±4,33	1,29 (0,36-11,65)	7,000	0,046
	Deney	7	6,39±3,86	4,52 (3,23-13,06)		
<i>Spirochaetes</i>	Kontrol	7	0		12,000	0,082
	Deney	7	0,42±0,82	0,00 (0,00-2,18)		
<i>Synergistetes</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			
<i>Tenericutes</i>	Kontrol	7	0,22±0,35	0,05 (0,00-0,91)	20,500	0,942
	Deney	7	0,21±0,21	0,22 (0,00-0,44)		
<i>Verrucomicrobia</i>	Kontrol	7	0		21,000	1,000
	Deney	7	0			

Filum seviyesinde kolon mikrobiyotası ise kontrol ve deney grubunda *Deinococcus Thermus* ($p<0,05$) haricinde diğerleri benzer olarak belirlendi (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Şube (Filum) Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Şube Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
Euryarchaeota	Kontrol	7	0,01±0,02	0,00 (0,00-0,04)	17,500	0,322
	Deney	7	0,03±0,05	0,01 (0,00-0,10)		
Acidobacteria	Kontrol	7	0		21,000	0,317
	Deney	7	0,00±0,01	0,00 (0,00-0,02)		
Actinobacteria	Kontrol	7	2,47±1,54	1,96 (0,68-4,19)	15,000	0,225
	Deney	7	5,84±4,52	4,88 (0,42-11,91)		
Bacteroidetes	Kontrol	7	1,88±2,23	1,05 (0,08-6,52)	21,000	0,655
	Deney	7	1,77±1,45	0,97 (0,27-4,13)		
Chlamydiae	Kontrol	7	3,08±4,73	0,29 (0,02-10,86)	19,000	0,482
	Deney	7	2,63±4,95	0,83 (0,09-13,71)		
Chloroflexi	Kontrol	7	0,01±0,02	0,00 (0,00-0,04)	21,000	0,317
	Deney	7	0			
Cyanobacteria	Kontrol	7	0		21,000	0,317
	Deney	7	0,01±0,03	0,00 (0,00-0,09)		
Deferribacteres	Kontrol	7	0,79±1,52	0,39 (0,00-4,19)	19,500	0,506
	Deney	7	0,17±0,38	0,04 (0,00-1,02)		
Deinococcus-Thermus	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,500	0,025
	Deney	7	0,197±0,231	0,227 (0-0,63)		
Fibrobacteres	Kontrol	7	0		24,500	1,000
	Deney	7	0			
Firmicutes	Kontrol	7	32,22±25,49	28,50 (4,86-68,73)	18,000	0,406
	Deney	7	46,56±25,08	54,33 (3,44-68,77)		
Fusobacteria	Kontrol	7	0,01±0,02	0,00 (0,00-0,04)	21,000	0,534
	Deney	7	0,05±0,09	0,00 (0,00-0,23)		
Planctomycetes	Kontrol	7	0,01±0,01	0,00 (0,00-0,03)	21,000	0,317
	Deney	7	0			
Proteobacteria	Kontrol	7	58,77±28,50	59,01(17,75-93,80)	16,000	0,277
	Deney	7	42,43±29,53	29,28(17,33-94,66)		
Spirochaetes	Kontrol	7	0,66±1,17	0,05 (0,00-3,05)	16,000	0,246
	Deney	7	0,30±0,75	0,00 (0,00-2,00)		
Synergistetes	Kontrol	7	0,00±0,01	0,00 (0,00-0,03)	21,000	0,317
	Deney	7	0			
Tenericutes	Kontrol	7	0		21,000	0,317
	Deney	7	0,00±0,01	0,00 (0,00-0,03)		
Verrucomicrobia	Kontrol	7	0,11±0,28	0,00 (0,00-0,75)	22,000	0,657
	Deney	7	0,02±0,04	0,00 (0,00-0,11)		

4.3.3. Sınıf Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Sınıf seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda *Methanomada group*, *Fibrobacteria*, *Erysipelotrichia* ve *Negativicutes* yüzdesi artarken, deney grubunun

dışkısında *Bacteroidia* yüzdesi artmış (Çizelge 4.14) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01-0,05$).

Çizelge 4.14. Sınıf Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Sınıf Seviyesinde Dışkı						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ARKEA						
<i>Methanomada group</i>	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77 (2,25-73-11)	0,000	0,002
	Deney	7	0,01±0,00	0,02 (0,0-0,05)		
BACTEROIDETES						
<i>Bacteroidia</i>	Kontrol		7,68±5,85	9,27 (0-14,10)	3,000	0,01
	Deney	7	20,33±6,55	21,04 (10,45-28,33)		
FIBROBACTERES						
<i>Fibrobacteria</i>	Kontrol	7	0,56±0,69	0,35 (0,0-1,78)	3,500	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
FIRMICUTES						
<i>Erysipelotrichia</i>	Kontrol	7	5,62±7,47	3,02 (0,87-20,54)	0,000	0,003
	Deney	7	0,18±0,23	0,09 (0,0-0,60)		
<i>Negativicutes</i>	Kontrol	7	1,76±1,59	1,52(0,0-3,66)	5,500	0,025
	Deney	7	0,05±0,06	0,02 (0,0-0,14)		

Sınıf seviyesinde kolon mikrobiyotasında ise yalnızca *Deinococci* deney grubunda daha yüksek (Çizelge 4.15) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Çizelge 4.15. Sınıf Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Sınıf Seviyesinde Kolon						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
DEINOCOCCUS-THERMUS						
<i>Deinococci</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,500	0,025
	Deney	7	0,20±0,23	0,23 (0,0-0,63)		

4.3.4. Takım Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Takım seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda *Methanobacteria*, *Fibrobacterales*, *Erysipelotrichales*, *Acidaminococcales* ($p<0,01$) ve *Corynebacteriales* yüzdeleri artmış, deney grubunda ise *Bacteroidales*, *Deltaproteobacteria* ($p<0,01$) ve *Eggerthellales* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış ve istatistiki olarak önemli idi (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Takım Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Takım Seviyesinde Dışkı						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ARKEA						
<i>Methanobacteria</i>	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77(2,25-73,11)	0,000	0,002
	Deney	7	0,01±0,02	0,0 (0-0,05)		
ACTINOBACTERIA						
<i>Corynebacteriales</i>	Kontrol	7	0,54±0,44	0,46 (0,11-1,16)	6,000	0,032
	Deney	7	0,14±0,18	0,07 (0,0-0,49)		
<i>Eggerthellales</i>	Kontrol	7	0,06±0,16	0,0(0,0-0,38)	7,500	0,043
	Deney	7	0,26±0,17	0,23 (0,0-0,52)		
BACTEROIDETES						
<i>Bacteroidales</i>	Kontrol	7	7,68±5,85	9,27 (0,0-14,10)	3,000	0,01
	Deney	7	20,33±6,55	21,04 (10,45-28,33)		
FIBROBACTERIA						
<i>Fibrobacterales</i>	Kontrol	7	0,56±0,69	0,35 (0,0-1,78)	3,500	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
FIRMICUTES						
<i>Erysipelotrichales</i>	Kontrol	7	5,62±7,47	3,02 (0,87-20,54)	0,000	0,003
	Deney	7	0,18±0,23	0,06 (0,0-0,60)		
<i>Acidaminococcales</i>	Kontrol	7	1,75±1,57	1,52 (0,0-3,57)	4,500	0,013
	Deney	7	0,02±0,05	0,0 (0,0-0,14)		
PROTEOBACTERIA						
<i>Deltaproteobacteria</i>	Kontrol	7	0,59±1,04	0,21 (0,0-2,69)	4,000	0,15
	Deney	7	2,25±1,29	2,40 (0,56-4,11)		

Takım seviyesinde kolon mikrobiyotasında ise *Actinomycetales*, *Thermales* ($p<0,05$) ve *Eggerthellales* ($p<0,01$) yüzdeleri deney grubunda artmış ve istatistiki olarak önemli idi (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Takım Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Takım Seviyesinde Kolon						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ACTINOBACTERIA						
<i>Actinomycetales</i>	Kontrol	7	0,04±0,11	0,0 (0,0-0,30)	9,000	0,034
	Deney	7	0,27±0,60	0,05 (0,0-1,64)		
<i>Eggerthellales</i>	Kontrol	7	0,03±0,04	0,0 (0,0-0,10)	3,000	0,005
	Deney	7	0,51±0,55	0,27 (0,06-1,49)		
DEINOCOCCUS-THERMUS						
<i>Thermales</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,500	0,025
	Deney	7	0,20±0,23	0,23 (0,0-0,63)		

4.3.5. Aile Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Aile seviyesinde dışkıda kontrol grubunda *Eubacteriaceae* ($p<0,001$), *Methanobacteriales*, *Fibrobacteraceae*, *Erysipelotrichaceae* ($p<0,01$), *Corynebacteriaceae*, *Dermabacteraceae* ve *Acidaminococcaceae* ($p<0,05$) artarken deney

grubunda *Bacteroidaceae*, *Streptococcaceae*, *Clostridiales incertae sedis*, *Lachnospiraceae* ($p<0,01$), *Eggerthellaceae*, *Odoribacteraceae*, *Oscillospiraceae* ve *Desulfovibrionales* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Aile Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Aile Seviyesinde Dışkı						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ARKEA						
<i>Methanobacteriales</i>	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77 (2,25-73,11)	0,000	0,002
	Deney	7	0,01±0,02	0 (0,0-0,05)		
ACTINOBACTERIA						
<i>Corynebacteriaceae</i>	Kontrol	7	0,51±0,43	0,45 (0,11-1,16)	6,000	0,032
	Deney	7	0,14±0,18	0,07 (0,0-0,49)		
<i>Dermabacteraceae</i>	Kontrol	7	0,09±0,12	0,04 (0,0-0,28)	10,500	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Eggerthellaceae</i>	Kontrol	7	0,06±0,16	0,0 (0,0-0,38)	7,500	0,043
	Deney	7	0,26±0,17	0,23 (0,0-0,52)		
BACTEROIDETES						
<i>Bacteroidaceae</i>	Kontrol	7	3,93±3,77	3,36 (0,0-9,72)	2,000	0,007
	Deney	7	11,93±3,41	12,38 (7,05-17,01)		
<i>Odoribacteraceae</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6,000	0,015
	Deney	7	0,18±0,16	0,15 (0,0-0,42)		
FIBROBACTERES						
<i>Fibrobacteraceae</i>	Kontrol	7	0,56±0,69	0,35 (0,0-1,78)	3,500	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
FIRMICUTES						
<i>Streptococcaceae</i>	Kontrol	7	0,16±0,24	0,08 (0,0-0,61)	2,000	0,006
	Deney	7	0,72±0,30	0,66 (0,29-1,06)		
<i>Clostridiales incertae sedis</i>	Kontrol	7	0,03±0,06	0,00 (0,0-0,16)	3,000	0,009
	Deney	7	0,20±0,20	0,03 (0,10-0,33)		
<i>Eubacteriaceae</i>	Kontrol	7	1,29±1,40	0,84 (0,23-4,06)	0,000	0,001
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Oscillospiraceae</i>	Kontrol	7	1,07±0,87	0,92 (0-2,38)	7,000	0,046
	Deney	7	2,39±1,29	2,24 (0,72-4,70)		
<i>Lachnospiraceae</i>	Kontrol	7	13,24±7,30	16,44 (0,82-20,31)	0,000	0,009
	Deney	7	31,49±32,36	2,96 (20,48-41,93)		
<i>Erysipelotrichaceae</i>	Kontrol	7	5,62±7,47	3,02 (0,87-20,54)	0,000	0,003
	Deney	7	0,18±0,23	0,062 (0,0-0,60)		
<i>Acidaminococcaceae</i>	Kontrol	7	1,75±1,57	1,51 (0,0-3,57)	4,500	0,013
	Deney	7	0,02±0,05	0,0 (0,0-0,14)		
PROTEOBACTERIA						
<i>Desulfovibrionales</i>	Kontrol	7	0,59±1,04	0,21 (0,0-2,69)	4,000	0,015
	Deney	7	2,25±1,29	2,40 (0,56-4,11)		

Aile seviyesinde kolonda kontrol grubunda yalnızca *Barnesiellaceae* artarken ($p<0,0$), deney grubunda *Actinomycetaceae*, *Micrococcaceae*, *Thermaceae*, *unclassified*

Clostridiales ($p<0,05$) ve *Eggerthellaceae* ($p<0,01$) yüzdeleri artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Aile Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Aile Seviyesinde Kolon						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ACTINOBACTERIA						
<i>Actinomycetaceae</i>	Kontrol	7	0,04±0,11	0,0 (0,0-0,30)	9,000	0,034
	Deney	7	0,27±0,60	0,05 (0,0-1,64)		
<i>Micrococcaceae</i>	Kontrol	7	0,01±0,01	0,0 (0,0-0,03)	9,000	0,034
	Deney	7	0,23±0,29	0,12 (0,0-0,77)		
<i>Eggerthellaceae</i>	Kontrol	7	0,03±0,04	0,0 (0,0-0,10)	3,000	0,005
	Deney	7	0,51±0,55	0,27 (0,06-1,49)		
BACTEROIDETES						
<i>Barnesiellaceae</i>	Kontrol	7	0,30±0,36	0,04 (0,0-0,80)	3,500	0,003
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
DEINOCOCCUS-THERMUS						
<i>Thermaceae</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,500	0,025
	Deney	7	0,20±0,23	0,23 (0,0-0,63)		
FIRMICUTES						
<i>unclassified Clostridiales</i>	Kontrol	7	0,18±0,20	0,10 (0,0-0,49)	9,000	0,047
	Deney	7	3,34±6,07	1,31 (0,05-16,88)		

4.3.6. Cins Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Cins seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda *Eubacterium*, *Allobaculum* ($p<0,001$), *Methanobacteriaceae*, *Fibrobacter* ($p<0,01$), *Corynebacterium*, *Brachybacterium* ve *Phascolarctobacterium* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış, deney grubunda ise *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Clostridiales Family XIII. Incertae Sedis*, *Dorea*, *Faecalimonas*, *Robinsoniella*, *Roseburia*, *Negativibacillus* ($p<0,01$), *Adlercreutzia*, *Butyricimonas*, *Acetatifactor*, *Eisenbergiella*, *Kineothrix*, *Lachnoclostridium*, *Marvinbryantia*, *Oscillibacter*, *Acetivibrio*, *Acutalibacter*, *Harryflintia*, *Pseudoflavonifactor* ve *Desulfovibrionaceae* ($p<0,05$) artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Cins Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası (p<0,05 için önemlidir).

Cins Seviyesinde Dışkı						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<i>EURYARCHAEOTA</i>						
<i>Methanobacteriaceae</i>	Kontrol	7	21,49±26,82	11,77 (2,25-73,11)	0	0,002
	Deney	7	0,095±0,019	0 (0-0,05)		
<i>ACTINOBACTERIA</i>						
<i>Corynebacterium</i>	Kontrol	7	0,51±0,43	0,45 (0,11-1,16)	6	0,032
	Deney	7	0,14±0,18	0,07 (0-0,49)		
<i>Brachybacterium</i>	Kontrol	7	0,09±0,12	0,038 (0-0,28)	10,5	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Adlercreutzia</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,084±0,089	0,103 (0-0,23)		
<i>BACTEROIDETES</i>						
<i>Bacteroides</i>	Kontrol	7	3,93±3,77	3,36 (0-9,72)	2	0,007
	Deney	7	11,93±3,41	12,38 (7,05-17,01)		
<i>Butyricimonas</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,18±0,16	0,15 (0-0,42)		
<i>FIBROBACTERES</i>						
<i>Fibrobacter</i>	Kontrol	7	0,559±0,685	0,35 (0-1,78)	3,5	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>FIRMICUTES</i>						
<i>Streptococcus</i>	Kontrol	7	0,15±0,24	0,076 (0-0,61)	2	0,006
	Deney	7	0,690±0,28	0,66 (0,29-1,06)		
<i>Clostridiales Family XIII. Incertae Sedis</i>	Kontrol	7	0,032±0,063	0 (0-0,16)	3	0,009
	Deney	7	0,202±0,076	0,195 (0,10-0,33)		
<i>Eubacterium</i>	Kontrol	7	1,27±1,41	0,83 (0,23-4,06)	0	0,001
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Acetatifactor</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,116±0,135	0,11 (0-0,36)		
<i>Dorea</i>	Kontrol	7	0,125±0,306	0 (0-0,75)	0	0,002
	Deney	7	4,43±1,84	3,92 (2,32-8,24)		
<i>Eisenbergiella</i>	Kontrol	7	0,134±0,328	0 (0-0,80)	7	0,04
	Deney	7	0,484±0,139	0,51 (0,30-0,70)		
<i>Faecalimonas</i>	Kontrol	7	0,36±0,399	0,23 (0-0,88)	0	0,003
	Deney	7	1,23±0,22	1,17 (0,91-1,51)		
<i>Kineothrix</i>	Kontrol	7	3,01±2,49	2,74 (0-6,67)	6	0,032
	Deney	7	6,73±2,38	5,93 (4,01-10,13)		
<i>Lachnoclostridium</i>	Kontrol	7	1,43±1,85	1,06 (0-4,99)	5	0,022
	Deney	7	4,08±1,90	4,43 (1,37-6,51)		
<i>Marvinbryantia</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,23±0,24	0,13 (0-0,63)		
<i>Robinsoniella</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	3	0,005
	Deney	7	0,28±0,17	0,30 (0-0,49)		
<i>Roseburia</i>	Kontrol	7	1,79±1,32	1,63 (0-3,49)	0	0,003
	Deney	7	7,97±2,41	7,47 (5,10-12,22)		
<i>Oscillibacter</i>	Kontrol	7	1,07±0,87	0,92 (0-2,38)	7	0,046
	Deney	7	2,39±1,29	2,24 (0,72-4,70)		
<i>Acetivibrio</i>	Kontrol	7	0,701±1,04	0,39 (0-2,75)	6	0,032
	Deney	7	1,75±0,95	1,48 (0,52-2,83)		
<i>Acutalibacter</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,11±0,12	0,10 (0-0,28)		
<i>Harryflintia</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,13±0,18	0,05 (0-0,46)		

Çizelge 4.20. (devam) Cins Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası

Negativibacillus	Kontrol	7	0,021±0,052	0 (0-0,13)	0	0,002
	Deney	7	1,82±1,54	0,84 (0,31-4,11)		
Pseudoflavonifractor	Kontrol	7	0,11±0,21	0 (0-0,52)	6	0,028
	Deney	7	0,66±0,45	0,82 (0-1,08)		
Allobaculum	Kontrol	7	4,18±7,90	0,99 (0,36-20,26)	0	0,001
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
Phascolarctobacterium	Kontrol	7	1,75±1,57	1,52 (0-3,57)	4,5	0,013
	Deney	7	0,022±0,051	0 (0-0,14)		
PROTEOBACTERIA						
Desulfovibrionaceae	Kontrol	7	0,59±1,04	0,21 (0-2,69)	4	0,015
	Deney	7	2,25±1,29	2,40 (0,56-4,11)		

Cins seviyesinde kolon mikrobiyotasında kontrol grubunda *Barnesiella*, *Allobaculum* ($p<0,01$) ve *Anaerostipes* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış, deney grubunda ise *Adlercreutzia*, *Enterorhabdus* ($p<0,01$), *Enteractinococcus*, *Meiothermus*, *Bacillales Family XI. Incertae Sedis*, *Faecalimonas*, *Kineothrix*, *Marvinbryantia*, *Moryella*, *Muricomes*, *Negativibacillus*, *Flintibacter*, *Intestinimonas*, *Parasutterella* ve *Pseudoxanthomonas* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Cins Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Cins Seviyesinde Kolon						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ACTINOBACTERIA						
Enteractinococcus	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,17±0,23	0,033 (0-0,6)		
Adlercreutzia	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	7	0,009
	Deney	7	0,26±0,36	0,11 (0-0,91)		
Enterorhabdus	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	7	0,009
	Deney	7	0,218±0,247	0,075 (0-0,58)		
BACTEROIDETES						
Barnesiella	Kontrol	7	0,297±0,36	0,04 (0-0,80)	3,5	0,003
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
DEINOCOCCUS-THERMUS						
Meiothermus	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,197±0,227	0,23 (0-0,63)		
FIRMICUTES						
Bacillales Family XI. Incertae Sedis	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,125±0,252	0,031 (0-0,69)		
Anaerostipes	Kontrol	7	0,171±0,157	0,12 (0-0,39)	9	0,034
	Deney	7	0,007±0,013	0 (0-0,03)		
Faecalimonas	Kontrol	7	0,094±0,234	0 (0-0,62)	5	0,011
	Deney	7	0,73±1,04	0,25 (0,01-2,89)		
Kineothrix	Kontrol	7	0,273±0,498	0 (0-1,36)	8	0,033
	Deney	7	3,84±4,68	0,81 (0,09-11,77)		

Çizelge 4.21. (devam) Cins Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası

Marvinbryantia	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,52±0,56	0,43 (0-1,36)		
Moryella	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,134±0,19	0,059 (0-0,49)		
Muricomes	Kontrol	7	0,024±0,064	0 (0-0,17)	9	0,028
	Deney	7	0,24±0,20	0,24 (0-0,48)		
Negativibacillus	Kontrol	7	0,050±0,082	0 (0-0,22)	9	0,043
	Deney	7	1,97±3,17	0,91 (0-8,88)		
Flintibacter	Kontrol	7	0,071±0,096	0 (0-0,24)	5	0,011
	Deney	7	1,78±3,22	0,74 (0-8,99)		
Intestinimonas	Kontrol	7	0,029±0,076	0 (0-0,20)	9	0,028
	Deney	7	1,42±2,80	0,45 (0-7,68)		
Allobaculum	Kontrol	7	0,58±0,68	0,45 (0-1,79)	7	0,009
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
PROTEOBACTERIA						
Parasutterella	Kontrol	7	0,010±0,025	0 (0-0,07)	7	0,017
	Deney	7	0,07±0,05	0,041 (0-0,14)		
Pseudoxanthomonas	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,102±0,203	0,017 (0-0,55)		

4.3.7. Tür Seviyesinde Dışkı ve Kolon Mikrobiyotası

Tür seviyesinde dışkı mikrobiyotasında kontrol grubunda *Eubacterium coprostanoligenes*, *Allobaculum stercoricanis* ($p<0,001$), *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera*, *Corynebacterium casei*, *Bacteroides eggerthii*, *Fibrobacter intestinalis*, *Ruminococcus bromii* ($p<0,01$), *Brachybacterium paraconglomeratum*, *Collinsella aerofaciens*, *Collinsella bouchesdurhonensis*, *Lactobacillus faecis*, *Eubacterium ruminantium*, *Blautia wexlerae*, *Ruminococcus champanellensis* ve *Phascolarctobacterium succinatutens* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi (Çizelge 4.22).

Deney grubunda ise *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides nordii*, *Prevotella stercorea*, *Streptococcus peroris*, *Ihubacter*, *Dorea longicatena*, *Faecalimonas umbilicata*, *[Desulfotomaculum] guttoideum*, *Robinsoniella peoriensis*, *Roseburia faecis*, *Negativibacillus massiliensis* ($p<0,01$), *Adlercreutzia equolifaciens*, *Bacteroides oleiciplenus*, *Bacteroides sartorii*, *Bacteroides stercorisoris*, *Butyricimonas synergistica*, *Prevotella melaninogenica*, *Parabacteroides chinchillae*, *Parabacteroides johnsonii*, *Staphylococcus cohnii*, *Acetatifactor muris*, *Kineothrix alysoideis*, *Lachnoanaerobaculum umeaense*, *[Clostridium] sphenoides*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Oscillibacter ruminantium*, *Acetivibrio ethanolgignens*, *Acutalibacter muris*, *Harryflintia acetispora*,

Pseudoflavonifractor capillosus ve *Desulfovibrio* ($p<0,05$) yüzdeleri artmış ve anlamlı idi (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Tür Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası ($p<0,05$ için önemlidir).

Tür seviyesinde dışkı mikrobiyotası						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
EURYARCHAEOTA						
<i>Methanobrevibacter</i>	Kontrol	7	11,55±10,99	9,41 (1,81-29,65)	0	0,002
	Deney	7	0,007±0,019	0 (0-0,05)		
<i>Methanosphaera</i>	Kontrol	7	9,94±16,76	2,25 (0,44-43,46)	0	0,002
	Deney	7	0,002±0,006	0 (0-0,02)		
ACTINOBACTERIA						
<i>Corynebacterium casei</i>	Kontrol	7	0,497±0,419	0,42 (0,11-1,16)	0	0,002
	Deney	7	0,022±0,04	0 (0-0,1)		
<i>Brachybacterium paraconglomeratum</i>	Kontrol	7	0,087±0,116	0,04 (0-0,28)	10,5	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Collinsella aerofaciens</i>	Kontrol	7	0,337±0,274	0,43 (0-0,64)	8	0,034
	Deney	7	0,023±0,062	0 (0-0,16)		
<i>Collinsella bouchesdurhonensis</i>	Kontrol	7	0,206±0,339	0,072 (0-0,87)	9	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,084±0,089	0,103 (0-0,23)		
BACTEROIDETES						
<i>Bacteroides eggerthii</i>	Kontrol	7	1,58±1,42	1,43 (0-3,22)	3,5	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Bacteroides intestinalis</i>	Kontrol	7	0,291±0,518	0,018 (0-1,3)	2	0,006
	Deney	7	2,066±0,904	1,95 (0,87-3,4)		
<i>Bacteroides nordii</i>	Kontrol	7	0,272±0,504	0 (0-1,25)	0	0,002
	Deney	7	3,297±1,316	2,95 (1,86-5,1)		
<i>Bacteroides oleiciplenus</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,260±0,294	0,201 (0-0,83)		
<i>Bacteroides sartorii</i>	Kontrol	7	0,694±1,215	0,28 (0-3,14)	4	0,015
	Deney	7	3,287±1,37	3,04 (1,58-5,64)		
<i>Bacteroides stercorisoris</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,115±0,126	0,097 (0-0,31)		
<i>Butyricimonas synergistica</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,177±0,154	0,15 (0-0,42)		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,468±0,590	0,35 (0-1,71)		

Çizelge 4.22. (devam) Tür Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası

<i>Prevotella stercorea</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	3	0,005
	Deney	7	1,606±1,688	0,78 (0-4,65)		
<i>Parabacteroides chinchillae</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,348±0,380	0,35 (0-1)		
<i>Parabacteroides johnsonii</i>	Kontrol	7	0,875±0,797	0,71 (0-1,99)	7	0,046
	Deney	7	2,066±1,071	2,28 (0,43-3,52)		
FIBROBACTERES						
<i>Fibrobacter intestinalis</i>	Kontrol	7	0,559±0,685	0,35 (0-1,78)	3,5	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
FIRMICUTES						
<i>Staphylococcus cohnii</i>	Kontrol	7	0,049±0,080	0 (0-0,19)	4	0,012
	Deney	7	1,651±1,443	1,376 (0-3,69)		
<i>Lactobacillus faecis</i>	Kontrol	7	2,474±3,284	1,33 (0-8,26)	10,5	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Streptococcus peroris</i>	Kontrol	7	0,025±0,062	0 (0-0,15)	0	0,002
	Deney	7	0,582±0,205	0,63 (0,29-0,91)		
<i>Ihubacter</i>	Kontrol	7	0,032±0,063	0 (0-0,16)	3	0,009
	Deney	7	0,202±0,076	0,195 (0,1-0,33)		
<i>Eubacterium coprostanoligenes</i>	Kontrol	7	0,423±0,399	0,35 (0,07-1,16)	0	0,001
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Eubacterium ruminantium</i>	Kontrol	7	0,705±1,217	0,153 (0-3,1)	10,5	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Acetatifactor muris</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,116±0,135	0,108 (0-0,36)		
<i>Blautia wexlerae</i>	Kontrol	7	0,135±0,136	0,126 (0-0,3)	7	0,015
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Dorea longicatena</i>	Kontrol	7	0,125±0,306	0 (0-0,75)	0	0,002
	Deney	7	4,432±1,837	3,92 (2,32-8,24)		
<i>Faecalimonas umbilicata</i>	Kontrol	7	0,362±0,399	0,227 (0-0,88)	0	0,003
	Deney	7	1,225±0,224	1,174 (0,91-1,51)		
<i>Kineothrix alysoides</i>	Kontrol	7	3,012±2,492	2,74 (0-6,67)	6	0,032
	Deney	7	6,726±2,375	5,93 (4,01-10,13)		
<i>Lachnoanaerobaculum umeaense</i>	Kontrol	7	0,138±0,337	0 (0-0,83)	8,5	0,006
	Deney	7	0,512±0,584	0,34 (0-1,77)		
<i>[Clostridium] sphenoides</i>	Kontrol	7	0,077±0,189	0 (0-0,46)	8	0,043
	Deney	7	0,624±0,599	0,64 (0-1,57)		
<i>[Desulfotomaculum] guttoideum</i>	Kontrol	7	0,036±0,089	0 (0-0,22)	3,5	0,009
	Deney	7	0,639±0,510	0,38 (0-1,46)		
<i>Marvinbryantia formatexigens</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,231±0,243	0,13 (0-0,63)		
<i>Robinsoniella peoriensis</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	3	0,005
	Deney	7	0,284±0,174	0,30 (0-0,49)		

Çizelge 4.22. (devam) Tür Seviyesinde Dışkı Mikrobiyotası

<i>Roseburia faecis</i>	Kontrol	7	0,376±0,419	0,32 (0-0,88)	0	0,003
	Deney	7	7,054±2,173	7,33 (4,34-10,71)		
<i>Oscillibacter ruminantium</i>	Kontrol	7	0,007±0,017	0 (0-0,04)	7	0,03
	Deney	7	0,427±0,374	0,43 (0-1,05)		
<i>Acetivibrio ethanolgignens</i>	Kontrol	7	0,701±1,036	0,39 (0-2,75)	6	0,032
	Deney	7	1,745±0,954	1,48 (0,52-2,83)		
<i>Acutalibacter muris</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,110±0,117	0,104 (0-0,28)		
<i>Harryflintia acetispora</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	9	0,036
	Deney	7	0,132±0,175	0,05 (0-0,46)		
<i>Negativibacillus massiliensis</i>	Kontrol	7	0,021±0,052	0 (0-0,13)	0	0,002
	Deney	7	1,817±1,538	0,84 (0,31-4,11)		
<i>Pseudoflavonifractor capillosus</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	6	0,015
	Deney	7	0,587±0,445	0,82 (0-1,08)		
<i>Ruminococcus bromii</i>	Kontrol	7	0,145±0,123	0,13 (0-0,3)	3,5	0,004
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Ruminococcus champanellensis</i>	Kontrol	7	0,173±0,209	0,09 (0-0,43)	10,5	0,042
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Allobaculum stercoricanis</i>	Kontrol	7	4,175±7,897	0,99 (0,36-20,26)	0	0,001
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	Kontrol	7	1,745±1,565	1,52 (0-3,57)	4,5	0,013
	Deney	7	0,022±0,051	0 (0-0,14)		
PROTEOBACTERIA						
<i>Desulfovibrio</i>	Kontrol	7	0,588±1,041	0,20 (0-2,69)	4	0,015
	Deney	7	2,247±1,292	2,40 (0,56-4,11)		

Tür seviyesinde kolon mikrobiyotasında kontrol grubunda *Barnesiella intestinihominis*, *Allobaculum stercoricanis* ($p<0,01$) ve *Ruminococcus bromii* ($p<0,05$) yüzdeleri yüksek iken; deney grubunda *Adlercreutzia equolifaciens*, *Bacteroides sartorii* ($p<0,01$), *Corynebacterium urealyticum*, *Enteractinococcus lamae*, *Enterorhabdus muris*, *Meiothermus timidus*, *Gemella*, *Staphylococcus cohnii*, *Lactobacillus intestinalis*, *Streptococcus peroris*, *Faecalimonas umbilicata*, *Kineothrix alysoides*, *[Clostridium] hylemonae*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Moryella indoligenes*, *Muricomes intestini*, *Roseburia faecis*, *Negativibacillus massiliensis*, *[Clostridium] viride*, *Flintibacter butyricus*, *Intestinimonas butyriciproducens* ve *Parasutterella excrementihominis* ($p<0,05$) yüzdeleri kontrol grubuna göre yüksek ve anlamlı idi (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Tür Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası (p<0,05 için önemlidir).

Tür Seviyesinde Kolon						
	Gruplar	N	Mean± SD (%)	Median (Min-Max)	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
ACTINOBACTERIA						
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	Kontrol	7	0,0515±0,078	0 (0-0,21)	6	0,017
	Deney	7	1,5152±1,66	0,66 (0,04-4,17)		
<i>Enteractinococcus lamae</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,1695±0,23	0,03 (0-0,6)		
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	7	0,009
	Deney	7	0,2627±0,36	0,11 (0-0,91)		
<i>Enterorhabdus muris</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,2069±0,26	0,03 (0-0,58)		
BACTEROIDETES						
<i>Bacteroides sartorii</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	7	0,009
	Deney	7	0,2816±0,28	0,21 (0-0,65)		
<i>Barnesiella intestinihominis</i>	Kontrol	7	0,2616±0,34	0,04 (0-0,8)	3,5	0,003
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
DEINOCOCCUS-THERMUS						
<i>Meiothermus timidus</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,1965±0,23	0,23 (0-0,63)		
FIRMICUTES						
<i>Gemella</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,1252±0,25	0,03 (0-0,69)		
<i>Staphylococcus cohnii</i>	Kontrol	7	0,3649±0,51	0,18 (0-1,42)	8	0,034
	Deney	7	4,0193±4,87	2,04 (0,06-11,91)		
<i>Lactobacillus intestinalis</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,8189±1,63	0,07 (0-4,41)		
<i>Streptococcus peroris</i>	Kontrol	7	0,17±0,35	0 (0-0,92)	6	0,016
	Deney	7	1,51±1,44	1,86 (0,05-3,55)		
<i>Faecalimonas umbilicata</i>	Kontrol	7	0,094±0,23	0 (0-0,62)	5	0,011
	Deney	7	0,726±1,04	0,25 (0,01-2,89)		
<i>Kineothrix alysoides</i>	Kontrol	7	0,273±0,50	0 (0-1,36)	8	0,033
	Deney	7	3,840±4,68	0,81 (0,09-11,77)		
<i>[Clostridium] hylemonae</i>	Kontrol	7	0,016±0,04	0 (0-0,11)	8	0,02
	Deney	7	0,214±0,21	0,16 (0-0,57)		
<i>Marvinbryantia formatexigens</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,522±0,56	0,43 (0-1,36)		
<i>Moryella indoligenes</i>	Kontrol	7	0±0	0 (0-0)	10,5	0,025
	Deney	7	0,134±0,19	0,06 (0-0,49)		
<i>Muricomes intestini</i>	Kontrol	7	0,024±0,06	0 (0-0,17)	9	0,028
	Deney	7	0,240±0,20	0,24 (0-0,48)		
<i>Roseburia faecis</i>	Kontrol	7	0,034±0,09	0 (0-0,24)	10	0,04
	Deney	7	0,479±0,54	0,23 (0-1,33)		
<i>Negativibacillus massiliensis</i>	Kontrol	7	0,050±0,08	0 (0-0,22)	9	0,043
	Deney	7	1,971±3,17	0,91 (0-8,88)		

Çizelge 4.23. (devam) Tür Seviyesinde Kolon Mikrobiyotası

<i>Ruminococcus bromii</i>	Kontrol	7	0,469±0,68	0,18 (0-1,93)	10	0,048
	Deney	7	0,038±0,07	0 (0-0,16)		
<i>[Clostridium] viride</i>	Kontrol	7	0,014±0,04	0 (0-0,1)	10	0,04
	Deney	7	0,080±0,08	0,072 (0-0,23)		
<i>Flintibacter butyricus</i>	Kontrol	7	0,071±0,096	0 (0-0,24)	5	0,011
	Deney	7	1,782±3,22	0,74 (0-8,99)		
<i>Intestinimonas butyriciproducens</i>	Kontrol	7	0,029±0,08	0 (0-0,2)	9	0,028
	Deney	7	1,417±2,80	0,45 (0-7,68)		
<i>Allobaculum stercoricanis</i>	Kontrol	7	0,582±0,68	0,45 (0-1,79)	7	0,009
	Deney	7	0±0	0 (0-0)		
PROTEOBACTERIA						
<i>Parasutterella excrementihominis</i>	Kontrol	7	0,0096±0,025	0 (0-0,07)	7	0,017
	Deney	7	0,065±0,054	0,04 (0-0,14)		

5. TARTIŞMA

5.1. Obezite ve Metabolik Endotoksemi

Diyetle indüklenen obezite modeli, yüksek yağlı veya yüksek enerjili diyetlerle beslenmenin neden olduğu obezitenin araştırılması amacıyla kullanılan bir hayvan modelidir. (Li ve ark. 2008). Bu model ile insanlarda görülen obeziteyi taklit etme amaçlanmaktadır (Lutz ve Woods 2012). Tipik olarak fare, sıçan, köpek veya insan dışı primatlar kullanılmaktadır. Modellemelerde kullanılacak hayvanların yaşı, ırkı, cinsiyeti ile besin içerikleri ve şekilleri ile maruz bırakılma süreleri son derece önemlidir (Reuter, 2007). Mevcut çalışmada da Kleinert ve ark. (2018)'da ifade edilen tüm kriterler dikkate alınarak 6-7 haftalık erkek sıçanlarda hayvansal iç yağı içerikli (Çizelge 3.1-3.2) HFD (% 66,75) ile obezite modeli oluşturularak haftalık boy ve kilo değişimleri değerlendirildi.

Obezite çoğunlukla kontrol hayvanlarına göre diyetin enerji içeriğindeki artışa bağlı olarak deney hayvanlarında meydana gelen vücut ağırlığındaki artış olarak ifade edilmektedir (Rothwell ve Stock 1981). Bu obezite tanımı, laboratuvarda tutulan tüm kontrol hayvanlarının hem zayıf hem de normal olduğu varsayımına dayanmaktadır. Bu nedenle, birçok deneysel çalışmada modellemelerin başlangıç zamanı ve şiddetinin değerlendirilmesinde sürekli bir değişkenlik görülmekte, bu olumsuz değişikliklerin tümü de gıda alımı veya ad libitum aşırı beslenmesi ile ilişkilendirilmektedir (Faine ve ark. 2002). Laboratuvar hayvanı olarak kullanılan kemirgenler için antropometrik parametreler hakkındaki bilgiler yetersizdir ve özellikle sıçanlarda obezitenin fiziksel bir tanımı yoktur (Novelli ve ark. 2007). Bu bağlamda yaptığımız çalışmada kilo artışları ve nazo-anal uzunlukların haftalık değerlendirmeleri ele alındığında çalışma süresince kontrol ve deney grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktu (Çizelge 4.1-4.2).

Sıçanlarda obezitenin değerlendirilmesindeki bu yetersizlik karşısında Novelli ve ark. (2007) erkek yetişkin Wistar sıçanlarda antropometrik verileri kullanarak hesapladıkları antropometrik indeks ile obeziteyi değerlendirmek için Bernardis ve Patterson gibi, Lee indeksini kullanmışlardır. Sonuçta Lee indeksi kilo alımına tabi tutulan sıçanlarda obeziteyi belirlemek için hızlı ve doğru bir yol olarak kabul edilmiş ve

hesaplanan sonuçların $>300 \text{ g}^{1/3}/\text{cm}$ olması durumunda hayvanların obez olduğu doğrulanmıştır (Bernardis 1970). Kilogramlar ve nazo-anal uzunluklar ele alındığında grup içi haftalık artışlar belirlenmiş (Çizelge 4.1-4.2) ve haftalar arasındaki değişimler istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,001$). Diğer taraftan gruplar arası kilogram ve nazo-anal uzunluklar arasında haftalık değişimlerde fark olmamasına rağmen Lee Index hesaplamalarında son iki haftada fark vardı (Çizelge 4.4). Bu fark grup içi haftalık değişim oranlarının birbirinden farklı olmasına bağlanabilir. Çalışmamızda vücut ağırlığı ve nazo-anal uzunluk ölçümlerinin de sıçanlarda tek başına obezitenin değerlendirilmesinde yetersiz olduğu ve Lee Index hesaplamalarının yapılması gerektiği bir kez daha doğrulandı.

Lee Index'e benzer şekilde deney hayvanlarında kullanılan diğer bir hesaplama vücut kitle indeksidir. BMI sıçanlarda vücut yağının basit ve güvenilir bir tahmini olmasının yanı sıra serumdaki dislipidemik profil ve oksidatif stres ile de ilişkilidir. Ayrıca BMI vücut yağının, obezite ve obezitenin doğurduğu olumsuz sonuçlarının tahmininde Lee indeksine göre avantajlıdır. Erkek erişkin Wistar sıçanlarının BMI değeri $0,45$ ile $0,68 \text{ g} / \text{cm}^2$ arasında değişmektedir ve $>0,68 \text{ g} / \text{cm}^2$ olan hayvanlar obez olarak kabul edilmektedir (Novelli ve ark. 2007). Bizim çalışmamızda da Lee Index'ine benzer şekilde son iki haftada gruplar arasında fark vardı ve deney grubunun BMI'si kontrol grubundan daha yüksek olup (Çizelge 4.3) istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Tüm dünyada küresel bir sorun haline gelen obezite sadece kilo artışı ile kalmayıp insülin direnci ve T2DM'unda eşlik ettiği anormal sitokin üretimi, artmış akut faz reaktanları ve enflamatuvar sinyal yollarının aktivasyonu ile karakterize kronik inflamasyon ile yakından ilişkilidir (Hotamisligil 2006). Fazla kilolu olmak veya obezite, plazma lipidlerindeki değişimler ve plazma LDL ve TG konsantrasyonlarındaki artışlar dahil olmak üzere geniş bir kardiyometabolik bozukluklar yelpazesi ile ilişkili olup dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (Manninen ve ark. 1988, Levine ve ark. 1995). Jia ve ark (2013)'de HFD ile indükledikleri obezite modelinde bizim çalışmamıza benzer şekilde kontrol grubuna göre yüksek TG ve düşük HDL düzeyleri ile birlikte, kontrol grubu ile benzer total kolesterol seviyeleri belirlemişlerdir (Çizelge 4.7). Logaritma10 tabanında TG değerinin HDL kolesterole bölünmesi sonucunda da aterosklerotik indeks (AI) belirlenebilmektedir. Kardiyovasküler hastalıklarla bağlantılı olduğu bilinen plazma AI'nın obezite ile arasındaki ilişkiyi ve bunun geleneksel lipid bileşenlerine kıyasla obezite

tahminindeki avantajı ilk defa Zhu ve ark. (2018) tarafından sistematik olarak değerlendirmiştir. Yüksek AI seviyelerinin obezite ile pozitif ve güçlü ilişkili olduğu, AI'ın obezite ile ilişkili yeni ve daha iyi bir biyobelirteç olduğunu ve obezitenin önlenmesi için daha yararlı olacağını ortaya koymuşlardır. HFD'le beslediğimiz deney grubumuzda AI değerleri yüksek riskli olacak düzeyde ($>2,4$) (Çizelge 4.8) ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,01$) yüksek idi.

Yağ dokusu depolarının obezitede genişlemesi, IL-6, serum amiloid A ve TNF- α gibi adiposit türevli enflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde artışa yol açar. İnsülin ile ilişkili hedef dokulardaki enflamatuvar yolların kronik aktivasyonu, obezite ile ilişkili insülin direncine de yol açmaktadır (Boden ve Shulman 2002, Schenk ve ark. 2008). Brenner ve ark. (2017) HFD ve normokalorik diyetle besledikleri farelerde hem açlık glukozunun hem de insülinin yükseldiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmaya benzer şekilde bizim bulgularımızda deney grubunda ikinci haftadan itibaren açlık kan glukoz düzeyleri kontrollerle karşılaştırıldığında artmıştı (Çizelge 4.5) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$). Ayrıca deney grubunda insülin düzeyleride istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) düzeyde yüksekti. Bunun aksine HOMA-IR hesaplamaları normal düzeylerde olup kontrol grubuna da benzerdi.

HOMA-IR değerleri göz önüne alındığında HFD'le beslenme açlık kan glukoz değerleri ve insülin seviyelerinde artışa neden olmasına rağmen insülin direnci gelişiminin tam olarak şekillenmemesi çalışmanın süresi ve diyet içeriği ile ilişkili olabilir. Ayrıca doymuş yağ içeriği yönünden zengin beslenmede artan TG ve azalan HDL ile kardiyovasküler riskin değerlendirilmesi için AI hesaplamalarının yapılmasının önemi bir kez daha ortaya konulmuştur.

Sıçanlarda normal kan glukoz düzeyleri hakkında yapılan çeşitli çalışmalar mevcut olup bunlardan Bräsläşu ve ark. (2007) açlık kan glukoz düzeylerini $117,06\pm1,96$ mg/dL ve Wang ve ark. (2010) ise yine açlık kan glukoz düzeylerini $71,1\pm23,6$ mg/dL olarak belirlemişlerdir. Bizim de deney grubunda iki hafta aralıkla ile aldığımız ve hızlı test kitleri ile baktığımız kan glukoz düzeyleri araştırmacıların verdiği bu değerlerin üzerinde idi (Çizelge 4.5). Diğer taraftan tokluk kan glukoz düzeyleri kontrol ve deney grubundabirbirine benzer (Çizelge 4.6) ve istatistiki olarak anlamlı değildi.

Doymuş yağ asitleri içeriği ile zenginleştirilmiş HFD tüketimi ile obezite gelişimi (Buettner ve ark. 2007, Hariri ve Thibault 2010) beraberinde bağırsaklarda yaşayan ve hem immünolojik hem de metabolik profil üzerinde fonksiyonel etkileri olan mikrobiyota topluluğu üzerine de olumsuz etkiler meydana getirmektedir (Yang ve ark. 2017). Diyetteki birçok biyoaktif bileşikten etkilenen bağırsak mikrobiyotası, obezite ve obezite ile ilgili metabolik bozuklukların patogeneğinde de rol oynamasından dolayı obeziteden korunmada iyi bir hedef olabilir (Jiang ve ark. 2016, Dong ve ark. 2019). Çalışmamızda, HFD'le indüklenen obezite modeli oluşturularak hem kolonik dokuda meydana gelen yangısal süreçler hem de diyetle bağlı değişen dışkı ve kolon mikrobiyota değerlendirilmiştir.

HFD'in mikrobiyota üzerindeki olumsuz etkileri ilk olarak konağın bağırsaklarında Gram pozitif mikroorganizmaların seviyelerini düşürmekle başlar. Ardından sayıları artan Gram negatif bakteriler kolon epitelinde, bu bakterilerin hücre duvarı bileşenlerinden olan LPS konsantrasyonlarını artırırlar (Cani ve ark. 2007, Cani ve ark. 2008). Normal koşullarda LPS üreten Gram negatif bakteri sayısının artışı bakteriler tarafından vücudun istila edilmesi anlamına gelmemektedir (Gutsmann ve ark. 2010). Çünkü gastrointestinal sistem, doğal konakçı savunmasının ilk aşamasını oluşturan kalın bir mukus tabakası ile kaplanır. Mukus, goblet hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan müsin adı verilen yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinlerden oluşmakta ve öncelikle epitelyumu sarmak ve zararlı maddeler tarafından hasarlanmasını önlemek için işlev görmektedir. Goblet hücreleri antijen sunumu ile bağışıklık fonksiyonlarında da görev alır ve mikroorganizmalar, mikrobiyal toksinler ve sitokinler gibi bazı olumsuz etkiler ile müsin kimyasal yapısı bozularak mukozal bariyer hasar görmektedir. Ayrıca ancak alkol tüketimi, radyasyon ve immobilizasyon stresi gibi bazı endojen veya eksojen olaylar bu koruyucu bariyer fonksiyonu değiştirebilir. Daha sonra bu süreç kronik enflamatuvar hastalıkların da dahil olduğu çeşitli patolojik durumlara yol açmaktadır (Cani ve ark. 2008, Cornick ve ark. 2015). Deneysel obezite modellerinde bağırsak bariyerinde meydana gelen değişikliklerden bağırsak geçirgenliğinin artışı mikrobiyom türevi LPS'in kan dolaşımına translokasyonunu destekler. 'Metabolik Endotoksemi' olarak adlandırılan bu durum LPS'in serum konsantrasyonlarında da bir ila iki kat artış meydana getirmektedir (Neves ve ark. 2013). Neves ve ark. (2013)'nın ifade ettiği gibi obezite ile tetiklediğimiz ME modelinde

deney grubunun serum LPS düzeyleri kontrol grubundan yaklaşık 3 kat daha yüksekti (Çizelge 4.9) ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$).

Metabolik endotoksemi, bağırsak mikrobiyotasındaki LPS içeren Gram negatif bakterilerin sayısının artışı ile daha sonra endotoksin olarak işlev gören LPS'nin gastro-intestinal bariyer boyunca kan dolaşımına translokasyonu arasındaki dengesizlik sonucu oluşur ve diyetin yağ içeriği bu translokasyonun varsayılan anahtar aktörüdür (André ve ark. 2019). HFD'le beslenen laboratuvar hayvanlarında bağırsak mikrobiyotasında artan Gram negatif bakteri varlığı ile birlikte yalnızca dolaşımda değil aynı zamanda dışkıda da LPS miktarında artış meydana gelmektedir (Kim ve ark. 2012). Bu çalışma ile paralel olarak bizim çalışmamızda da deney grubunda serum LPS seviyelerinin artışının yanı sıra dışkıda LPS miktarı artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$). Ancak homojenize edilen kolonik dokuda LPS miktarı kontrol grubuna benzerdi (Çizelge 4.9).

LPS emilimi için bir diğer önemli faktör de kolon içeriğinin geçiş süresidir. Anitha ve ark. (2016), farelerde doymuş yağ asitlerinin kalın bağırsakta nöronların apoptozunu indüklediğini, peristaltizmi azalttığını, kabızlığı indüklediğini ve kan LPS seviyelerini arttırdığını ifade etmişlerdir. HFD sonrası sadece bağırsak ve kolon geçirgenliği büyük oranda artmakla kalmayıp geçiş süresi yavaşlamaktadır (Fang ve ark. 2019). Reichardt ve ark. (2017)'de benzer şekilde, HFD tüketimi ile kalın bağırsağın peristaltisini değerlendirmiş, ancak peristaltizmde belirgin bir azalma ve kan LPS seviyelerinde bir artış gözlemlenmemiştir. Aksine Zhou ve ark. (2018) ve Gil-Cardoso ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada enerjisinin % 60 ve % 30'unun yağ içeriği olan diyet ile yaptıkları çalışmada kan LPS seviyeleri artmıştır. Bu araştırmacıların bulgularına benzer şekilde % 66,75 oranında doymuş yağ içeriği kullandığınız sıçanların serum LPS düzeylerinde deney grubunda istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) artışlar meydana gelmiştir (Çizelge 4.9). Araştırmalar arasında kan LPS düzeylerindeki tutarsızlığın sebebi yalnızca diyetin yağ içeriği ile ilişkili olmayıp, kabızlık nedeniyle kolon içeriğinin tutulma süresindeki uzamanın da LPS emilimine katkıda bulunması olarak açıklanabilir (Reichardt ve ark. 2017).

LPS'nin taşınması ile ilgili yapılan bir çalışmada immunoelektron mikroskopisi ile şilomikronlara LPS alımı gözlenmiştir (Laugerette ve ark. 2011). Ayrıca Clement-Postigo ve ark. (2012)'de HFD sonrası şilomikron fraksiyonu ve artmış LPS seviyeleri ile serum

TG konsantrasyonu arasında 3 saate kadar pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, bağırsakta salınan LPS'nin lipit emilimi sırasında misellere alındığını ve daha sonra LPS'nin lipitlerle birlikte bağırsaktan emildiğini göstermektedir. Çalışmada deney ve kontrol grubunda kolonik doku LPS düzeyleri arasında anlamlı farkın gözlenmemesi LPS'nin dokudan hızla taşınması ile ilişkilendirilmiştir.

HFD tüketimi safra üretimini artırmaktadır (Suzuki ve Hara 2011) ve enterik bakteriler tarafından metabolize edilen sekonder safra asitlerinin de bağırsak sıkı bağlantı proteinlerinin (tight junction proteins-TJP) ekspresyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (Murakami ve ark. 2016, Ahmad ve ark. 2017). Ayrıca safra sekresyonu ile ince bağırsak mikrobiyotası, artmış bağırsak geçirgenliği ve endotoksin üretimi arasında bir ilişki vardır. Bağırsak mikrobiyota popülasyonunun büyük çoğunluğunun sekunda veya kalın bağırsakta bulunması, ince bağırsakta mikroorganizmaların gastrointestinal sistemde hayatta kalması ve kolonizasyonu için büyük bir engel teşkil eden safranın varlığı sebebiyledir. Bakteriyel büyümeyi önlemek için safraya salgılanan IgA, mukus ve safra asitlerinin deterjan özelliği safraya güçlü antimikrobiyal özellikler sağlar. Bununla birlikte, bazı bakteriler ve patojenler, virülans faktörlerini düzenlemek için de safrayı kullanabilmektedir (Begley ve ark. 2005).

Serum örneklerinde safra kanallarında değişen derecelerde obstrüksiyon, proliferasyon, inflamasyon ve neoplaziyi gösteren enzimler lösin aminopeptidaz, gama-glutamiltranspeptidaz ve 5'-nükleotidaz'dır (Batsakis 1974). Serum GGT aktivitesi insanlarda karaciğer hastalıklarında özellikle de intra ve ekstrahepatik biliyer tıkanıklıkların teşhisi için etkili bir araç olarak kabul edilmesine rağmen sıçanlarda bazal serum GGT düzeyleri düşük veya saptanamamaktadır. Bu sebeple serum GGT, sıçanlarda karaciğer disfonksiyonu veya yaralanmasının etkili bir göstergesi olarak kabul edilmemektedir (Hagerstand ve Norden 1972, Caisey ve King 1980). Mevcut çalışmada da literatür verileriyle uyumlu olarak safra asitleri ve safra kanalları tıkanıklıkları hakkında bilgilendiren bilirubin ve GGT seviyeleri iki grupta benzerdi.

Yine safra kanalı tıkanıklığı buradaki epitel hücreleri tarafından ALP sentezinin artmasına ve ALP'nin serum içine salınmasına neden olur. Normal serum bilirubin seviyelerine rağmen karaciğer içerisindeki birkaç küçük safra kanalında tıkanma

durumlarında ALP artabilmektedir (Lum 1995, Agganis ve ark. 2018). Serum ALP seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HFD'le indüklenen obez sıçanlarda yükselmiş ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$). Safra kesesinden mahrum olmalarına rağmen safra akışının kanallar vasıtası ile olduğu bilinen sıçanlar için meydana gelen bu değişim HFD'le ilişkili artan safra akışına maruziyetten kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Çizelge 4.7).

Sağlıklı bireylerde dolaşımdaki ALP öncelikle karaciğer ve kemikten köken almaktadır. Ayrıca kan grubu O ve B olanlarda yağlı diyet sonrası intestinal ALP seviyelerinin yükselmesi de serum ALP'de 12 saatlik bir artışta eşlik etmektedir (Lowe ve John 2020). Diyetle aşırı yağ alımı sonucunda dışkı ile atılan yağ miktarı artar ve dışkının görüntüsü sadece yağlı değil aynı zamanda solgundur. % 66,75 oranında doymuş yağ içeren diyetle beslediğimiz sıçanlardaki solgun dışkı rengi yine literatür verileri ile uyumluydu. Dışkıda renk kaybının bir diğer nedeni de karaciğer hasarı (intrahepatik kolestaz) ve safra akışının aksaması olabilmektedir (Cheifetz ve ark. 2011). Bütün olarak ele alındığında HFD ile hem artan intestinal ALP seviyeleri hem de intrahepatik safra kanallarının uyarılması ile yüksek serum ALP seviyelerini açıklayabilir.

Karaciğer lipofilik maddeleri suda çözünür metabolitlere dönüştürme kapasitesi sayesinde potansiyel olarak toksik kimyasal maddeleri vücuttan idrar yoluyla verimli bir şekilde elimine etme ve korumada önemli rol oynayan bir organdır (Grant 1991). Yine protein metabolizması ve üre döngüsü karaciğerde meydana gelmektedir. Anderson ve ark. (2008) %45 yağ içerikli diyetle indükledikleri obezite modelinde karaciğerde hafif yağ birikimi olabileceğini varsaymışlar ve dokuya özgü protein metabolizmasında değişiklikler ile birlikte total hepatik protein sentezinin bazal oranlarında hafif düşmeyi ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde çalışmamızda kolon dokusunda total protein düzeyleri kontrol grubu ile benzer olmasına rağmen serum total protein düzeyleri kontrol grubundan düşük ve istatistiki olarak ($p<0,01$) anlamlı idi. Bunun aksine karaciğerde sentezlenen albümin düzeylerinin kontrol grubu ile benzer olması karaciğerde meydana gelen hasarın şiddeti hakkında bilgi sağlayabilir. Yine parankimal karaciğer hastalığı, üre döngüsü enzimlerinin konjenital eksikliği nedeniyle karaciğerin bozulmuş metabolik aktivitesi sonucunda protein metabolizmasının son ürünü olan kan üre nitrojen düzeyleri azalmaktadır. Bunun dışında düşük proteinli diyet, yetersiz beslenme veya açlık BUN

düzeylerinin düşmesinin diğer nedenlerindendir (Walker ve ark. 1990). Karaciğerin zarar görüp görmediğini veya işlevinin bozulup bozulmadığını belirlemek için bazı karaciğer testlerinde yükselmeler meydana gelmektedir. Örneğin, aminotransferazlar (ALT ve AST) özellikle karaciğer hücresi hastalığının (hepatosellüler hastalık) neden olduğu karaciğer hasarında yükselir. Bununla birlikte, bazı ilaçların veya safra yollarının neden olabileceği intrahepatik obstrüktif hastalıkta ALP en anormal testtir (Pagana ve Pagana 2017). Beslenme ve obezite ile ilişkili karaciğerde meydana gelen yağlanmada karaciğer enzim ve fonksiyonlarında bir takım olumsuz değişiklikler meydana gelmektedir. Haghighatdoost ve ark. (2017)'de yaptıkları bir meta analiz çalışmasında karbonhidratı düşürülmüş diyetler ile beslenme sonrasında karaciğer enzimlerini değerlendirmişler ve AST'de azalma meydana geldiğini ALT'nin ise değişmediğini ortaya koyan literatürlere yer vermişlerdir (Browning ve ark. 2011).

Transaminazların bu farklı yanıtının nedeni tam olarak açıklanamamasına rağmen enzim yarı ömründeki farklılıklar, artmış sinüzoidal klirens, sitosolik ve / veya mitokondriyal bölmelerden salınım değişiklikleri veya hepatik metabolik aktivitedeki değişikliklerle ilişkili olabilir (Zhou ve ark. 1998, Sheth ve ark. 1998) ve hepatik biyopsi ile bazı patolojik değişikliklerin doğrulanmasına gidilmelidir (Fracanzani ve ark. 2008).

İnsan mononükleer hücreleri ve fare makrofaj hücre hattı (Raw 264.7) kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, HDL'ye bağlı LPS ile IL-6 ve TNF- α üretiminin azaldığı, VLDL'nin de LPS ile indüklenen nükleer faktör kapp B'nin (NF- κ B) aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Yao ve ark. 2016, van Bergenhenegouwen ve ark. 2016). Öte yandan, oksitlenmiş LDL'nin makrofajlarda LPS ile NF kapp B aktivasyonunu desteklediği gösterilmiştir (Wiesner ve ark. 2010). Bu sonuçlara göre bağlanılan lipoprotein çeşidinin sadece LPS aktivitesini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda enflamatuvar yanıtları da teşvik edebileceğini gösterilmiştir (Fuke ve ark. 2019). HFD'le beslenen sıçanlarda serum örneklerinde düşen HDL konsantrasyonu ile birlikte artan TG konsantrasyonu ve kolonik dokuda artan pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri (IL-6 ve TNF- α) literatür verileri ile uyumludur. Fakat serum IL-6 ve TNF- α düzeyleri kontrol grubu ile benzer olarak belirlenmiştir. Yine Li ve ark. (2018) çalışmalarında, HFD ile indüklenen obez farelerinin serum LPS ve kolon dokusunda TNF- α ve IL-6 gibi enflamatuvar faktörlerin seviyelerinin arttığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca pro-enflamatuvar sitokin

seviyelerinde artış sonrasında sistemik inflamasyon, obezite, insülin direnci ve tip 2 DM gibi metabolik fonksiyon bozuklukları meydana gelmektedir (Cani ve ark. 2007, Cani ve ark. 2008).

Bu veriler, HFD'le bariyer fonksiyonunun bozulmasının LPS girişine katkıda bulunması ve kolon dokusunun LPS'nin emilimi için önemli bir bölge olduğunu desteklemektedir (Blanchard ve ark. 2017, González-Quilen ve ark. 2019). Bağırsaktaartmış LPS varlığının bağırsak epitel hücrelerindeki toll like reseptörler 4 (TLR4) yoluyla yok edildiği bildirilmiştir (Guo ve ark. 2015). TLR4, bağışıklık hücrelerinin (monositler, makrofajlar, Kupffer hücreleri) ve diğer hücrelerin (adipositler, hepatosit, endotelhücreleri) membran boyunca uzanan reseptörlerdir (Song ve ark. 2006). HFD'leindüklenen ME kronik düşük dereceli bir pro-enflamatuvar ve pro-oksidatif stres durumunu ortaya çıkaran TLR4 aracılı enflamatuvar aktivasyonu tetikler (Aderem ve Ulevitch 2000, Neves ve ark. 2013).

Mevcut çalışmada da ME oluşumu HFD'le indüklendi ve pro-enflamatuvar sitokinlerin doku düzeylerinde anlamlı artışlar belirlenmesine rağmen TLR-4 doku düzeyleri kontrol grubuna benzer idi. Bunun nedeni TLR-4'ün transmembran bir protein olması ve kullanılan analiz ve homojenizasyon yönteminin olabileceği düşünülmüştür. Ancak serum TLR4 seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak ($p<0,05$) anlamlı düzeyde yüksek idi (Çizelge 4.9). TLR4 her ne kadar transmembran reseptör proteini olsa da serum örneklerinde yangısal süreçleri işaret edecek düzeydeyükselmelerin saptandığı klinik çalışmalar mevcuttur. Bu yükselmeler ile ilgili çalışmalarintemel yaklaşımı yangısal hasarın göstergesi ve serum TLR4 ekspresyonunun artmasının birsonucu olduğudur (Litang ve ark. 2017, Li ve ark. 2018).

Bütün bulgular toplu olarak ele alındığında çalışmamızda sıçanlarda doymuş yağ içeriği yüksek diyet ile 12 hafta beslenme sonrasında BMI ve Lee indeks artışı ile ortaya konulan obezite gelişiminin yanı sıra, serum LPS ve TLR4 artışı, kolon dokusunda pro-enflamatuvar sitokinlerden olan IL-6 ve TNF- α artışının eşlik ettiği ME modeli oluşturulmuştur. Diğer taraftan rutin biyokimyasal parametrelerde TG ve HDL değerlerindeki değişiklik sonucunda AI artışı ve risk oranının yüksek olduğu da ortaya konulmuştur.

Rodentlerde obezitede gözlenen yüksek pro-enflamatuvar ve oksidan ortam ile ilişkilendirilen ME hakkında yapılan pek çok çalışma insan katılımcılara çevrilme çabalarına yol açmıştır. Böylece insanlarda inflamasyon ve metabolik düzensizliklerle ilgili olan obezitede ME'nin klinik önemi hakkında yeni kanıtlar elde edilebilecektir. Dolaşımdaki endotoksinlerin 0.5-2.0 kat artışı ME'nin geleneksel olarak tanımlanandan daha iyi bir göstergesi olabilir. Bunun yanı sıra ME ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiden sorumlu olan spesifik bakteri toplulukları hakkındaki tartışmalar halen devam etmektedir (Boutagy ve ark. 2016).

5.2. Metagenomik Analizler

HFD ile beslenen sıçanlar metabolik ve enflamatuvar süreçlerin ilerlemesi ve ME'nin değerlendirilmesinin yanı sıra ve bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin araştırılmasında da model olarak kullanılabilir. Diyet değişikliklerine en hızlı cevap veren metabolik organ bağırsak mikrobiyotasıdır ve mikrobiyal ekoloji diyet değişikliklerine farklı tepkiler vermektedir (Marques ve ark. 2016). Yapılan bu çalışmanın sonuçlarında da HFD ve standart diyetle beslenen sıçanların hem luminal hem de kolon mikrobiyotası değerlendirilmiş ve gruplar arasında farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10-23).

HFD'le beslenme bağırsak mikroflorasının ürettiği özellikle Gram negatif bakteriyel endotoksin olan LPS seviyelerinde artış sonucunda ME'ye duyarlılığın artmasına neden olmaktadır. Bağırsak mikrobiyotası ve metabolik hastalıklar arasındaki ilişki ilk olarak Washington Üniversitesi'ndeki Jeffrey Gordon laboratuvarı tarafından rapor edilmiştir. Buradaki asıl çarpıcı bulgular filum düzeylerinde bağırsak mikrobiyotası ve beslenme arasındaki farklılıklardır (Ley ve ark. 2005). Daha öncede ifade edildiği gibi bağırsak mikrobiyotası bakteri, arkea, protozoa, mantar ve virüsler dâhil olmak üzere çeşitli mikroorganizma türlerinden oluşmaktadır (Rajilic-Stojanovic ve ark. 2007).

5.2.1. Alem düzeyinde

Metagenomik analizlerimiz, taksonomide organizmaların bilimsel sınıflandırmasında kullanılan en üst sınıflandırma taksonu olan alem düzeyinde dışkı ve kolonik mukozada bakteri ve arkea olarak belirlemiştir. Arkelerin aktif metabolizmaya

uğraması ve insan bağırsağındaki fermentatif bakterilerin metabolik yollarını optimize etmesinden dolayı sağlık/hastalık ilişkilerinin açıklanabilmesi ve potansiyel değişikliklerinin belirlenmesi açısından önemlidir (Nakamura ve ark. 2010, Coker ve ark. 2020). Arkeler, peptidoglikan ve D-gliserol esterlerinin veya yağ asitlerinin bulunmaması gibi bakteri ve ökaryotlardan farklı hücresel özelliklere sahip tek hücreli prokaryotlardır (Kandler ve König 1998). Çoğu arkeler, ekstrem ortamlara sahip ekosistemlerde bulunur ve asidofilik, alkalifilik, halofilik veya termofilik olabilir (Eme ve ark. 2018). Bunların dışında Metanojenik arkelerde mevcut olup bunlar hayvanların sindirim sisteminde yaşayan metanojenler olarak bilinir (Ishaq ve ark. 2016). Metanojenler, ağır metallerin dönüşümü, trimetilamin metabolizması ve immün modülasyon gibi fonksiyonlara katılmakta ve gastrointestinal sistemin stabil kommensalleri olarak görev yapmaktadırlar (Lecours ve ark. 2014, Brugere ve ark. 2014). Detaylı metagenom analizlerinin yapıldığı çalışmamızda alem seviyesinde dışkı ve kolonik mukozada hem bakteri hem de arkeler belirlenmiştir. Kontrol grubunda toplam dışkı mikrobiyotasının % 21,49'unu arkeler, % 78,51'ini ise bakteriler oluştururken deney grubunda bu oran % 0,01 arkea ve % 99,99 bakteri olarak belirlendi (Çizelge 4.10). Bu oranların aksine kolon mikrobiyotasında kontrol ve deney grubunun arkea (% 0,0097-0,0321) ve bakteri (% 99,99-99,97) yüzdeleri birbirine benzer ve istatistiki olarak anlamlı fark yoktu (Çizelge 4.11). Kim ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada da insan dışkısında ortalama arkeal yüzdeyi toplam bakteri ve arkeal bolluğun % 10,24'ü olarak belirlemişlerdir.

Arkeler insanlarda bağırsakta bolluk bakımından nispeten düşüktür ve çoğunlukla izole edilemezler. Ancak yeni nesil dizileme gibi kültürden bağımsız yöntemler arkelerin belirlenmesine yardımcı olabilir ve insan arkeomunun değerlendirmesine izin verebilir (Oxley ve ark. 2010). Her hangibir hastalık için etiyolojik bir patojen olarak hiçbir arkeadan bahsedilmemesine rağmen insanlarda bazı hastalıklarla ilişkili olduğuna dair raporlar da bulunmaktadır (Eckburg ev ark. 2003, Nakamura ve ark. 2010). Ancak Coker ve ark. (2020)'de kolorektal kanserli hastalardan alınan dışkı örneklerinin arkeomlarının halofillerin zengin ve metanojenlerden fakir olduğunu orataya koyarak kolonik arkea türlerinin kolorektal karsinogeneze katkıda bulunabileceği ve biyobelirteç olabileceklerini ifade etmişlerdir. Yine obez bireylerde Metanojenik arkeanın bağırsak mikrobiyotasında yoğun olması polisakkarit fermente eden bakterilerin büyümesini destekleyen ve diyetten daha yüksek enerji kullanımına yol açan hidrojen indirgeme metabolizmaları ile

ilişkilendirilmiştir (Basseri ve ark. 2012). Bizim çalışmamızda da % 2,65 karbonhidrat içeriği ile beslenen deney grubunda dışkıda filum seviyesinde *Euryarchaeota* ve sınıf seviyesinde *Methanomada group*, *Methanobacteria* takımı *Methanobacteriales* ailesi *Methanobacteriaceae* cinsi yüzdesi 0,01 iken, % 53 karbonhidrat içerikli normal diyetle beslenen kontrol grubu sıçanların dışkısında % 21,49 olup (Çizelge 4.20) istatistiki olarak anlamlıydı ($p<0,01$). Bu sonuç metanojenik arkeler karbonhidratla beslenme sonucunda varlığını sürdürdüğünü göstermektedir. Diğer taraftan diyetle bitkisel yağ ilavesi (Vargas ve ark. 2020) ve in vitro bir çalışmada hücre kültürüne doymuş yağ ilavesinin hücre zarı geçirgenliğini artırdığı ve metan üreten metanojenik arkelerin miktarında düşmeye sebep olduğu ortaya konulmuştur (Zhou ve ark. 2013).

Son zamanlarda, metanojenik arkeler (metanojenler), bağırsaklardaki metabolik fonksiyonların potansiyel bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmalar, metan üretmek için bağırsak ortamında dihidrojen gazı ve küçük yağ asitleri dâhil olmak üzere çeşitli elektron kaynaklarını metabolize ederler (Pimentel ve ark. 2012). Bu çalışmalar, metanojenlerin ve metanın obezite sırasında glukoz homeostazının düzenlenmesinde rol oynayabileceğini göstermekle beraber bunun doğrudan mı yoksadolaylı mı olduğu belirsizdir (Laverdure ve ark. 2018). Dahası metanın hücrede anti- enflamatuvar yolları ve redoks dengesini uyarabildiği ifade edilmektedir (Liu ve ark. 2012). Bu bağlamda ele alındığında son iki haftaya kadar deney grubuna benzer şekilde kilo artışı belirlenen kontrol grubunda, dışkıda metan üreten arkelerin oranının belirgin düzeyde artması normal fizyolojik dengenin bir parçası olarak değerlendirilmiştir. Ancak, deney grubunda yok denilecek kadar az olan metajenik arkeler hem karbonhidrat yönünden neredeyse sıfır olacak şekilde beslenme ve HFD'le ilişkilendirilen disbiyozisin bir göstergesi sayılabilecek ilk literatür bulgu olabilir. Metan birçok gastrointestinal hastalıkta rol oynamasına rağmen metanojenik arkeler bu hastalıklar için henüz etiyolojik bir ajan olarak tanımlanmamıştır. Bu sebeple disbiyozisin bakterilerden mi, arkelerden mi yoksa konakçı epitelinden mi kaynaklandığını anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ek olarak, metan üretimini, metanojen çeşitliliğini ve metanojen yoğunluğunu değerlendirmek için daha hassas, hızlı ve minimal invaziv değerlendirme tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır (Ishaq ve ark. 2016).

Gastrointestinal sistemdeki arkeaolojik çeşitlilik, bakterilerinkinden çok daha azdır ve monogastrikler otçul geviş getiren hayvanlara kıyasla çok daha düşük bir çeşitliliğe sahiptir. Her iki konak tipinde de *Methanobrevibacter* cinsine ait türler, gastrointestinal sistemde baskın metanojenler olarak belirtilmiştir (Dridi ve ark. 2009). Metanojenler, komşu mikroplar tarafından artan polisakkarit fermantasyonunu ve besin üretimini kolaylaştırarak konakta kilo alımına katkıda bulunabilir. Metan gazı ayrıca bağırsak geçişini yavaşlatır ve bağırsak hareketliliğini etkiler, bu da besin emilimi için daha uzun süre sağlayabilir (Mathur ve Barlow 2015). Nkamga ve ark. (2017)'de hem hayvanların hem de insanların bağırsaklarında arkea alemine ait keşfedilmeyi bekleyen daha çok filum olduğunu ve sindirim sisteminde arkelerin etkilerinin araştırılması gerektiğini ifade etmişlerdir. Daha önce yapılan pek çok çalışmanın aksine bu çalışma hem bakteri hem de arkeleri tür düzeyinde belirlemiştir. Kontrol grubu sıçanlarının dışkılarında *Methanospaera* (% 9,94) ve *Methanobrevibacter* (% 11,55) türleri belirlenmiş (Çizelge 4.22), deney grubunda ise bu türler yok denecek kadar az olup fark istatistiki açıdan anlamlıdır ($p<0,01$). Gruplar arasındaki farklılıkların temel nedeni beslenme ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca Ramezani ve ark. (2018) metanogenic arkelerin anti-aterojenik potansiyelinin olduğunu ortaya koymuşlardır. Buna rağmen kardiyovasküler hastalık ve kronik böbrek hastalığının ilerlemesi üzerine etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda hayvanın kullanıldığı çalışmalar yapılarak doğrulanması gerektiğini de ifade etmişlerdir (Ramezani ve ark. 2018).

5.2.2. Şube (Filum) Düzeyinde

Taksonomik olarak bakteriler şube (filum), sınıf (class), takım (order), aile (family), cins (genus) ve tür (species) olarak sınıflandırılmakta ve bir filumda 160'tan fazla tür temsil edilebilmektedir (Laterza ve ark. 2016). Filum düzeyinde mikrobiyota pek çok kaynaktan farklı isimde ve sayıda gösterilmektedir. Dominant bağırsak mikrobiyal filumları *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia* olarak ifade edilmektedir (Rinninella ve ark. 2019). Ancak bizim çalışmamızın metagenom analizlerinde hem dışkıda ve hem de kolonik mukozanın filum düzeyinde mikrobiyal bileşenleri Cong ve ark. (2018)'de yaptıkları çalışmaya benzer şekilde *Acidobacteria* (Gram pozitif), *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* (Gram negatif), *Chlamydiae* (Gram pozitif), *Chloroflexi* (Gram negatif), *Cyanobacteria* (Gram negatif),

Deferribacteres, *Deinococcus Thermus* (Gram pozitif), *Fibrobacteres*, *Firmicutes* (Gram pozitif), *Fusobacteria* (Gram pozitif), *Planctomycetes* (Gram pozitif), *Proteobacteria*, *Spirochaetes* (Gram pozitif), *Synergistetes*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia* (Gram pozitif)'dan oluşmaktaydı (Çizelge 4.12-13).

Bu filumlardan *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus Thermus*, *Planctomycetes*, *Synergistetes* ve *Verrucomicrobia* dışkıda belirlenememiştir. Bu bulgular Pu ve ark. (2016)'da *Acidobacteria*, *Chrysiogenetes*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus-Thermus*, *Nitrospira*, *Synergistetes* ve *Tenericutes* filumlarının daha düşük bollukta (% 0.1'in altında) olduğunu ifade ettikleri makale ile uyumludur. *Deferribacteres* ve *Spirochaetes* filumları ise kontrol grubunda yok ancak deney grubunda çok düşük yüzdelerde belirlendi ancak farklılıklar anlamlı değildi. Çalışmamızda filum düzeyinde deney ve kontrol grubu arasında farklı olup istatistiki olarak anlamlı olan bakteriler *Bacteroidetes*, *Fibrobacteres* ve *Proteobacteria* idi ($p < 0,05$).

Bulgularımızla örtüşecek şekilde *Fibrobacteres* ve *Proteobacteria* HFD ile arttığı ifade edilen iki bakteri filumudur (Hildebrandt ve ark. 2009, Li ve ark. 2018). Aksine Morrison ve ark. (2018)'de *Fibrobacter* bolluğunun hem yaşlı hem de obez hayvanlara kıyasla kontrolde önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmalar arasındaki farklılıkların temel nedeninin kullanılan tür ve hayvanların yaşı olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan pek çok çalışmada olduğu gibi Le ve ark. (2005)'da dışkıda yoğunlukları en fazla olan *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* filumları üzerinde durmuşlardır. Çalışma da aşırı iştahları ve derin obeziteyle dikkat çeken leptin eksik farelerin kontrol farelerinden daha az *Bacteroidetes* ve daha fazla *Firmicutes* içerdiğini ortaya koymuşlardır. Böylece yapılan çalışma yağsız ve obez hayvanların mikrobiyal topluluklarındaki farklılıkların ilk doğrudan kanıtını olmuştur (Ley ve ark. 2005, Moschen ve ark. 2012, Sutoyo ve ark. 2020). Bu bulguyu desteklemek için Gordon laboratuvarında yapılan bir diğer çalışmada obez insan deneklerde zayıf deneklere göre daha az *Bacteroidetes* ve daha fazla *Firmicutes* gözlemlenmiştir (Ley ve ark. 2006).

Her ne kadar filum düzeyinde çeşitlilikten bahsedilmiş olsada enerji metabolizması ve homeostazını etkileyen iki ana topluluk *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* (Ley ve ark.

2005). *Bacteroidetes* 'lerin nispi bolluğu, obez insan deneklerde diyet müdahalesi ve kilo kaybı doğru orantılıdır (Nadal ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda dışkıda *Firmicutes* yüzdesi deney grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı değildi (Çizelge 4.12). Bu yükselme yağ oranı yüksek diyetle beslenmenin bir sonucu olarak literatür veriler ile uyumludur. Yukarıda bahsi geçen çalışmaların aksine Duncan ve ark. (2008), zayıf ve obez kişilerin dışkısında filum düzeyinde *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* oranlarında herhangi bir farklılık gözlemlememiş ve bu filumların obezite ile ilişkili olmadığını ifade etmişlerdir. Ayrıca obez olup diyet yapan bireylerde *Firmicutes* oranlarında azalma tesbit etmişlerdir. Beslenme ve diyet içeriğinde bunun için önemli bir faktördür ve literatürler arasındaki çelişkili bulgular hem diyetin içeriği hem de süresi ile ilişkili olmanın yanı sıra bu iki filumun oranları obezitede bir işleve sahip olmadığı ifade edilmektedir. Bununla birlikte, azaltılmış karbonhidrat içerikli kilo kaybı diyetlerinde kolonositlerin asıl enerji kaynağı olan bütirat üretiminden sorumlu olan Gram pozitif bakteri oranında azalma tesbit edilmiştir (Duncan ve ark. 2008).

Bacteroidetes filumu esas olarak asetat ve propiyonat üretirken, *Firmicutes* filumunda birincil metabolik son ürün bütirattır (Macfarlane ve Macfarlane 2003). SCFA'ların emilimi kolonositlerde olmakta ve kolonositlerin asıl enerji kaynağını da bütirat oluşturmaktadır (Binder 2010). Bu bağlamda ele alındığında bağırsak bariyerinin gelişimini destekleyen bütirat üreten Gram pozitif karakterli *Firmicutes* filumunun miktarında azalma mukozal bariyer ve TJP'nin ekspresyonlarında bir azalmaya sebep olabilir (Peng ve ark. 2009). Gram negatif *Bacteroidetes* filumu tarafından asetat üretiminin, parasempatik sinir sisteminin aktivasyonuna yol açtığını ve bunun da artmış glukoz ile uyarılmış insülin sekresyonunu, artmış ghrelin sekresyonunu, hiperfajiyi, obeziteyi ve bununla ilişkili sekelleri teşvik ettiği ortaya konulmuştur (Ridler 2016). Bu açıdan ele alınır ise çalışmanın sonuçlarında deney grubunda belirlenen ve istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,01$) olan *Bacteroidetes* filumundaki artış açıklanabilir. Schwartz ve ark. (2010) zayıf insanlara kıyasla obez insanlarda *Firmicutes*'de hiçbir değişiklik belirleyememiş ancak *Bacteroidetes*'de bir artış bulmuşlardır ve bizim bulgularımızla benzerdir. Ayrıca dışkıda artan Gram negatif bakteri kaynaklı LPS miktarı ve Gram negatif bir filum olan *Bacteroidetes* artışı da bir biri ile uyumludur ve ME'yi destekler niteliktedir.

Kolonik mikrobiyotada ise tüm filumlar göz önüne alındığında, *Fibrobacteres* her iki grupta da belirlenememiş, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria* ve *Tenericutes* kontrol grubunda belirlenememiş ancak deney grubunda çok düşük düzeylerde belirlenmiştir. *Chloroflexi*, *Planctomycetes* ve *Synergistetes* ise deney grubunda belirlenememiş ancak kontrol grubunda çok düşük düzeylerde belirlenmiştir. Ama gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmamıştır. *Deinococcus-Thermus* ise kontrol grubunda belirlenemezken deney grubunda düşük yüzdelerde (% 0,197) belirlenmiş ve istatistiki olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). *Deinococcus-Thermus*, ekstremofiller olarak da bilinen çevresel tehlikelere karşı oldukça dirençli bir bakteri filumudur. Bu bakteriler, Gram pozitif lekeler veren kalın hücre duvarlarına sahiptirler, ancak ikinci bir zar içerirler ve bu nedenle yapı olarak Gram negatif bakterilere daha yakındırlar (Griffiths ve Gupta, 2007). Bu filum ile ilgili çok fazla çalışmaya ulaşılamamakla birlikte karaciğer DNA profilinde morbid olmayan obezlerde artış belirlenmiştir (Sookoian ve ark. 2020). Yine Chen ve ark. (2014)'de Crohn hastalığı olan bireylerde *Deinococcus-Thermus* filumunu rektum mukozasında daha yoğun olarak belirlemişlerdir. Hu ve ark. (2019) dışkıda *Deinococcus-Thermus* filumunun vücut yağ ağırlığı ile negatif korelasyonlu olduğunu ifade etmelerine rağmen önceki çalışmaların sonuçları arasındaki tutarsızlığın kullanılan türler ve diyetler arasındaki farklılıklar ile açıklanabileceğini ve diyetle oluşturulan bu fenotip için *Deinococcus-Thermus*'un rolünün tam olarak açıklanamadığını bildirmişlerdir. HFD'le beslediğimiz deney grubunda kolon mikrobiyotasında belirlediğimiz *Deinococcus-Thermus*'un çok düşük yüzdelerde de olsa belirlenmesi obezite ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Çizelge 4.13). Ayrıca *Deinococci* sınıfı; *Thermates* takımı; *Thermaceae* ailesi; *Meiothermus* cinsi; *Meiothermus timidus* türü içinde farklılık aynı şekilde olup tür düzeyinde bu bulguyu destekleyen, Pires ve ark. (2005) yılında bu türü tanımladıkları çalışmaları dışında herhangi bir literatür veriye rastlanamamıştır.

Kolonik mikrobiyota analizlerinde diğer filumlar da farklı yüzdelerde belirlenmesine rağmen istatistiki olarak gruplar arasında fark yoktu. Buna rağmen takım, aile, cins ve tür sınıflandırmaları için anlamlılıklar gözlemlendi (Çizelge 4.17-19-21-23) ve hastalıklar ile mikrobiyotanın ilişkilendirilmesi için yapılacak çalışmalarda metagenomik analizlerin mutlaka tür düzeyine kadar inmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Filum düzeyinde farklılıkları toplu olarak değerlendirmek gerekir ise, dışkı mikrobiyotasında 7 filum hiç belirlenememiştir. Ancak distal kolon mikrobiyotada sadece 1 filum her iki grup için sıfırdı ve filum düzeyinde çok düşük yüzdelerde olmasına rağmen çeşitliliğin dışkıdan çok olduğundan söz edilebilir. Diğer taraftan filum düzeyinde yapılan metagenomik analizlerin obezite ve ME'nin tahmininde yeterli olmayabilir ve mutlaka taksonomik alt birimlerinde belirlenmesi gerekmektedir.

5.2.3. Sınıf, Takım, Aile, Cins ve Tür Düzeyinde

Sınıf düzeyinde dışkıda *Bacteroidia* (*Bacterioidetes*), *Fibrobacteria* (*Fibrobacteres*), *Erysipelotrichia* ve *Negativicutes* (*Firmicutes*) sınıflarında farklılıklar belirlendi.

Kolon mikrobiyotasında ise sınıf seviyesinde yalnızca *Deinococci* deney grubunda anlamlı ($p<0,05$) olarak belirlendi ve aşağıda literatür veriler ile tartışıldı (Çizelge 4.15).

5.2.3.1. *Bacterioidetes*

Dışkı; Dışkıda *Bacterioidetes* filumuna ait *Bacteroidia* sınıfına, *Bacteroidales* takımına, *Bacteroidaceae* ve *Odoribacteraceae* ailesine, *Bacteroides* ve *Butyricimonas* cinsine ve *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides nordii*, *Bacteroides oleiciplenus*, *Bacteroides sartorii*, *Bacteroides stercorisoris*, *Butyricimonas synergistica*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella stercorea*, *Parabacteroides chinchillae* ve *Parabacteroides johnsonii* türüne ait bakteriler deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$). Bu türlerden altı tanesi ise kontrol grubunda hiç belirlenememiştir (*Bacteroides oleiciplenus*, *Bacteroides stercorisoris*, *Butyricimonas synergistica*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella stercorea*, *Parabacteroides chinchillae*). Yalnızca *Bacteroides eggerthii* türüne ait bakteri yüzdesi kontrol grubunda belirlenirken deney grubunda belirlenememişti (Çizelge 4.22) ve fark istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,01$). Lecomte ve ark. (2015) HFD'le indüklenen obezite modelinde bacterioidetes filumuna ait türlerin arttığını, Yang ve ark. (2020)'de *Odoribacteraceae* farelerde obezite ile ilişkili olduğunu ifade etmekte olup bulgularımız bu veriler ile uyumludur.

Vücut yağı ve inflamasyon ile ilişkili olduğu ortaya konulmuş (Lopez-Contreras ve ark. 2018) olan *Bacteroides eggerthii*'nin kontrol grubunda daha yüksek ve anlamlı olması

literatürler ile uyumlu değildi. Her ne kadar son iki haftada Lee index ve BMI’de gruplar arasında farklılıklar olsa bile kontrol grubu sıçanlarımızda da ME’nin tetiklenmediği sağlıklı bir kilo alımından bahsedilebilir. Nitekim Dhakal ve ark. (2020) *Bacteroides eggerthii*’nin seçici olarak ağırlığın azaltılmasında şimdiye kadar bilinmeyen doğrudan bir ilişki gözlemlediği çalışma ile bizim bulgumuz desteklenmektedir. Bu çelişen sonuçlar ile araştırmacının ifade ettiği gibi *Bacteroides Eggerthii* bolluğunun bir yandan vücut yağının arttığını gösterirken, diğer yandan enerjinin azaltılmasına ilişkin duyarlılığı artırıp artırmadığını ortaya koymak için çalışmaların devam etmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Bacteroides cinsine ait bir diğer tür olan *Bacteroides intestinalis*’in insan bağırsak izolatu olan ikincil safra asidi üretimini sağladığı Fukiya ve ark. (2009) tarafından ortaya konulmuştur. HFD’le beslediğimiz deney grubu sıçanlarda bu türün önemli oranda ($p<0,01$) artan yüzdesi, HFD’le beslenme ve artan yağ sindirimi tarafından uyarılan safra akışı ile ilişkilendirilmiştir.

Song ve ark. (2004) tarafından tanımlanan *Bacteroides nordii*, bakteriyemiye sebep olan fırsatçı patojenlerden olup daha önce antibiyotik kullanmamış COVID-19 hastalarının dışkı örneklerinde kontrollere kıyasla artmış olduğu belirlenmiştir (Zuo ve ark. 2020). Bizim çalışmamızda da deney grubunda yüzde oranları kontrol grubuna göre artan ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) olan bu tür disbiyozisin bir göstergesi olarak kabul edilebileceğini düşünüyoruz. Ayrıca postmenapozal dönem obez kadınların fekal mikrobiyotasının incelendiği bir çalışmada *Bacteroides nordii* insülin direnci ve dislipidemi ile negatif korelasyon göstermesine rağmen sağlıklı konakçı metabolizmasıyla ilişkisini açıklayabilecek tanımlanabilir özellikler ortaya konulamamıştır (Brahe ve ark. 2015).

Yine ilk olarak Watanabe ve ark. (2010) tarafından tanımlanan *Bacteroides oleiciplenus* kontrol grubunda yoktu ancak deney grubunda istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) düzeyde belirlendi. Ke ve ark. (2019) bizim bulgularımızın aksine HFD’le besledikleri farelerde bu türde azalma olduğunu ortaya koymalarına rağmen bunun altında yatan metabolik yolları açıklayamamışlardır. Bu çelişki diyet bileşenlerdeki farklılıklar ile açıklanabilir.

*Bacteroides sartorii*nin HFD ve obezite ile ilişkisi hakkında yeterli kaynağa ulaşılamamasına rağmen fiberden yoksun diyetle beslenen farelerde baskın tür olarak belirlendiği (Nakajima ve ark. 2020) ayrıca diyetle *Bacteroides sartorii* ilavesi yapılan farelerin vücut ağırlığını kaybetmediği (Yang ve ark. 2017) hakkında kaynaklara ulaşılabilmektedir. Bizim bulgularımız da deney grubunda artan bu türün diyet ve obezite ile ilişkili metabolik yolları etkileyebileceği yönünde idi. Ancak bu mekanizmanın açıklanabilmesi için daha çok sayıda kontrollü diyet denemeleri ve bu türün metabolizması hakkında daha çok çalışma yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

Çalışmamızda *Bacteroides stercorisoris* kontrol grubunda belirlenemezken deney grubunda düşük yüzdelerde belirlendi (Çizelge 4.22) ve fark anlamlı ($p<0,05$) idi. Garcinolün antiobezite etkisinin patentinin alındığı diğer bir çalışmada da (Majeed ve ark. 2018) garcinol ile *Bacteroides stercorisoris* artışların ortaya konulması dışında yeterli bilgiye ulaşılamamıştır. Sınırlı kaynaklar ile çelişen bulgularımız, diyet süresi ve bileşenleri ile kullanılan denek türündeki farklılıklar ile açıklanabilir.

Butyricimonas butirik asit üreten bir cinsdir (Konikoff ve ark. 2016) ve hayvansal protein alımının artışı, doymuş yağ, kolesterol ve basit şeker tüketimi, düşük *Butyricimonas* yüzdeleri ile ilişkilendirilmiştir (Garcia-Mantrana ve ark. 2018). Butirik asitise hem insülin direncinin düzeltilmesinde hem de mucin oluşumu ve bağırsak bariyer bütünlüğünün sağlanmasında önemli rolleri olan bir SCFA'dir (Gao ve ark. 2009, Everard ve ark. 2013). Bizim deney grubumuzda yüzde oranları düşük olmasına (% 0,18) rağmen dışkıda *Butyricimonas* cinsinde ve bu cinse ait olan *Butyricimonas synergistica* türünde artış belirlenmiş ve istatistiki olarak önemli idi ($p<0,05$). Parthasarathy ve ark. (2016)'da *Bacteroidetes-Butyricimonas* cinslerinin kabızlığa bağlı geçişin yavaşladığı hastalarda arttığını ortaya koymuşlardır. HFD'le beslediğimiz sıçanlarda artan *Butyricimonas* cinsi ve buna ait bazı türler, Rao ve ark. (2000)'de ifade ettikleri gibi yağlı diyetle yavaşlayan kolonik geçişle ilişkilendirilebilir.

Butyricimonas'e ait olan dört adet tür (*Butyricimonas faecihominis*, *Butyricimonas synergistica*, *Butyricimonas paravirosa* ve *Butyricimonas virosa*) ilk olarak Sakamoto ve ark. (2009) tarafından tanımlanmıştır. Her ne kadar *Butyricimonas* cins seviyesinde faydalı etkilerinden bahsedilmiş olsa da tür düzeyinde; *Butyricimonas phoceensis* aneorobik türü

ilk olarak morbid obez bir Fransız hastanın dışkıсында (Togo ve ark. 2016), *Butyricimonas virosa* ise 72 yaşındaki kolon adenokarsinomlu bir erkek hastanın dışkıсында belirlenmiş ve ilk bakteriyemi ile ilişkili vaka olarak literatürde yerini almıştır (Ulger Toprak ve ark. 2015). Mevcut çalışmalar göz önüne alındığında *Butyricimonas* cinsinin beslenme ve hastalıklar ile ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için bundan sonraki çalışmalarda tür düzeyinde farklılıkların araştırılabileceği daha detaylı ve kontrollü klinik denemelerin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Bacteroidetes filumunun anaerobik Gram negatif bakterilerinden olan *Prevotella* türleri (Jousimies-Somer 1995) sağlıklı insan vücudundaki oral kavite ve akciğerlerde yaygın varlığı ve enfeksiyonlarda nadiren yer almaları nedeniyle kommensal bakteriler olarak kabul edilir. Ancak sadece birkaç suşunun kronik enfeksiyonlar, apseler ve anaerobik pnömoni dahil olmak üzere fırsatçı endojen enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir (Nagy 2010, Brook 1998, Brook 2004). *Prevotella copri* ve *Prevotella stercorea* HIV ile enfekte kişilerde kolon disbiyozunda (Dillon ve ark. 2016), *Prevotella melaninogenica* ise HFD'le beslenen farelerde vajinal disbiyozda belirlenmiştir (Si ve ark. 2017). *Prevotella melaninogenica* ve *Prevotella stercorea* deney grubunda artan türlerdi ve bağırsaklarda diyetle indüklenen yangısal süreçle ilişkilendirildi. Mikrobiyota bileşiminin ve *Prevotella* bolluğunun büyük ölçüde konak genetiği tarafından belirlendiği, ancak menopoz, hormon tedavisi, insan papilloma virüsü enfeksiyonu ve obezite gibi çevresel faktörlerden etkilendiği yukarıdaki çalışmalarda desteklenmektedir (Larsen 2017).

HFD'le beslenen sıçanlarda yine *Bacteroidetes* filumu üyelerinden *Bacteroides*, ve *Parabacteroides* cinslerine ait bazı türler hem vücut ağırlığındaki hem de yağ kütlesindeki değişim ile pozitif korelasyon göstermektedir (Lecomte ve ark. 2015). Bizim çalışmamızda da HFD'le beslenen sıçanlarda *Parabacteroides chinchillae* ve *Parabacteroides johnsonii* türlerinde istatistiki olarak anlamlı farklılık tesbit edildi ve bu obezite ile ilişkilendirildi.

Sonuç olarak bakteriodetes filumuna ait 11 türün sadece 1 tanesi deney grubunda belirlenemezken, 6 tanesi kontrol grubunda yoktu ve geriye kalan 4 tür ise her iki grupta farklı yüzdelerde belirlendi ve deney grubunda yüksekti. Literatür bilgilerin pek çoğunda belirtildiği gibi deney grubumuzda hem filum düzeyinde hem de tür düzeyinde deney grubunda bakteriodeteslerdeki artış belirgin ve istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi. Diğer

tarafından HFD'le yüzde oranlarının *Firmicutes* filumuna göre bazı kaynaklardaki azaldığını ifade edilen *Bacteroidetes* filumunun tür düzeyine kadar metagenom analizlerinin yapılmasının hastalıkların etiyoloji ve patogenezlendeki rollerini daha iyi açıklayabileceği kanaatine varıldı.

Kolonik mikrobiyota; filum, sınıf ve takım seviyesinde *Bacteroidetes* belirlenmesine rağmen aile seviyesinde *Barnesiellaceae*, cins seviyesinde *Barnesiella* ve tür seviyesinde *Barnesiella intestinihominis* deney grubunda belirlenemedi ancak kontrol grubundaki düşük yüzdelere istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) idi. Aksine tür düzeyinde *Bacteroides sartorii* ise kontrol grubunda belirlenemedi. Dışkıda da bu tür yine deney grubunda kontrol grubundan anlamlı oranda yüksekti. Kolon mikrobiyota ve bu tür arasındaki ilişkinin gösterildiği herhangi bir literatüre rastlanamamasına rağmen hem dışkı hem mukozadaki artışlar HFD'le ilişkili disbiyozise katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Mikrobiyota çeşitliliği denilince her ne kadar ilk akla gelen dışkı mikrobiyotası olsa da gastrointestinal sistem boyunca mukozal bir mikrobiyotanın varlığı da ortaya konulmuştur. Üst GIS mukozasında *Proteobacteria* ve *Firmicutes*, alt gastrointestinal sistem mukozasında ise *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* çeşitliliği ve bolluğu belirgindir. Hatta *Bacteroidetes* yoğunluğu *Firmicutes*ten daha fazladır (Vuik ve ark. 2019). Bu bulgular ile paralel olarak *Bacteroidetes* filumuna ait *Barnesiellaceae* ailesi kontrol grubumuzda kolon mukozasında istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) yoğunlukta idi. Dışkıda *Barnesiellaceae* normal kilolu bireylerde artmış (Chiu ve ark. 2014) bu ailenin bir üyesi olan *Barnesiella* cinsi yine obezlerle karşılaştırıldığında kontrollerde yüksek seviyelerde belirlenmiştir (Del Chierico ve ark. 2018). Bu cinse ait bir tür olan *Barnesiella intestinihominis* ilk olarak Morotomi ve ark. (2008) tarafından insan dışkısında belirlenmiştir. Ayrıca *Barnesiella intestinihominis*'in yaşlı erişkinlerde kas gücünün korunmasıyla ilgili mekanizmalarda yer alabileceği de ifade edilmektedir (Fielding ve ark. 2019). Park ve ark. (2020)'de *Barnesiella intestinihominis* bolluğunun plazma TG seviyesindeki değişim ile negatif korelasyon gösterdiğini ve immunmodulator etkilerinin olduğunu ifade etmektedir. Her ne kadar bu çalışmalar dışkı örneklerinde yapılmış olsa da bu türün organizmaya faydalı etkilerinin olduğu literatür verileri ile anlaşılmaktadır. Dışkıda belirleyemediğimiz bu türü kontrol grubu kolon mikrobiyota bileşeni olarak belirlemiş olmamız, bu türün sağlıklı

mukozayı temsil edebileceğini ve bununla ilgili çalışmaların derinleşmesi gerektiğini düşündürmektedir. Çünkü Daillère ve ark. (2016)'da bu türü alkilleyici immünomodülatör bileşiklerin etkinliğini iyileştiren bir "oncomicrobiotics" olarak tanımlamışlar ve akciğer/yumurtalık kanserinin tedavisinde siklofosfamidin etkinliğini artırdığını ortaya koymuşlardır. *Barnesiella intestinhominis* bunu yaparken intratümöral lezyonlarda IFN γ üreten T hücrelerinde bir artışa yol açmaktadır.

Kolonik mikrobiyotada belirlenen diğer bir bakteroidetes filumu üyesi ise *Bacteroides sartorii* olup *Barnesiella intestinhominis*'in aksine kontrol grubunda belirlenememiş ancak deney grubunda düşük yüzdelerde belirlenmiş ve anlamlı ($p<0,01$) idi. Kolon mikrobiyotası hakkında sınırlı sayıda literatüre rağmen Lucke ve ark. (2006) ülseratif koliti olan hastalardan alınan mukozal biyopsi örneklerinde *Bacteroidetes* miktarlarının artmış olduğu belirlemiştir. Ancak mukozal floradaki bu artışın hastalığın nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğunun anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Lucke ve ark. 2006). Ancak bu çalışmada tür düzeyinde değerlendirme yapılmamış olması kısıtlayıcı taraftır ve ülseratif kolit gibi pek çok yangısal bağırsak hastalığında tür düzeyinde kolonik mikrobiyomun değerlendirildiği yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

5.2.3.2. *Fibrobacteres*

Dışkı; *Fibrobacter* ilk olarak *Bacteroidetes* filumuna dahil edilmiş sonraları filum olarak bireysel olarak adlandırılmış (Hungate 1950, Montgomery ve ark. 1988), rumenden izole edilen selülitik bir bakteridir ve kalın bağırsak fermentasyonu yapan otçulların gastrointestinal sistemlerinde *Fibrobacter* popülasyonları tanımlamıştır. Ancak bunların fizyolojileri henüz yeterince açıklanamamış değildir (Neumann ve ark. 2017).

Çalışmamızda da *Fibrobacteres* filumu *Fibrobacteria* sınıfı; *Fibrobacterales* takımı; *Fibrobacteraceae* ailesi; *Fibrobacter* cinsine ait *Fibrobacter intestinalis* türü deney grubunda belirlenemezken kontrol grubunda düşük yüzdelerde (% 0,56) belirlenmiş (Çizelge 4.12) ve istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,01$). Bu farkın nedeni sekunda fermentasyon gerçekleştirebilen (Sakaguchi ve ark. 1998) sıçanlar için deney grubunda lif ve karbonhidratın bulunmaması ile ilişkilendirilmiştir.

Kolon; Kolonik mikrobiyotada ise deney ve kontrol grubunda *Fibrobacter* filumu ve taksonomik alt birimlerine ait bir türe rastlanamamıştır (Çizelge 4.13).

5.2.3.3. *Proteobakteria*

Dışkı; *Proteobacteria*, Gram negatif bakterilerin önemli bir filumudur. *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Helicobacter*, *Yersinia* ve *Legionellales* gibi çok çeşitli patojenik cinsleri içerirler (Madigan ve Martinko 2005). Peters ve ark. (2018) obez yetişkinlerde yaptıkları çalışmada *Actinomycetaceae* ve *Proteobacteria* filumuna ait bazı ailelerde artışlar gözlemlenmiştir. Bir diğer benzer çalışmada obezitede *Proteobacteria* düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur (Koo ve ark. 2019). Gram negatif bir filum olan *Proteobacteria*'nın çalışmanın deney grubunda kontrol grubunun hemen hemen iki katı kadar yükselmiş ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) olması, HFD'le besledikleri kemirgenlerde *Firmicutes* ve *Proteobacteri* filumlarının artışı belirleyerek obezite ile ilişkilendiren Hildebrandt ve ark. (2009)'nın çalışma ile uyumludur.

Desulfovibrio türü, *Bacteria* alemine ait *Proteobacteria* filumu, *Delta/Epsilon Subdivisions* sınıfı, *Deltaproteobacteria* takımı, *Desulfovibrionales* ailesi, *Desulfovibrionaceae* cinsine aittir. Fiberden yoksun diyetle beslenme sonrasında fiber bozucu bakteri türlerinde azalmaya cevap olarak hızla amino asit parçalayan ve müsin bozucu sülfat indirgeyen *Desulfovibrio* türlerinde artış gözlenmiştir (Desai ve ark. 2016, Leth 2019). Bizim çalışmamızda da *Desulfovibrio* türünde deney grubundaki artışlar istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi (Çizelge 4.22). *Desulfovibrio*'da kapsayan pek çok *Proteobakter* türü düşük dereceli kronik yangısal süreci başlatmada etkilidir. Bu süreç özellikle obezitenin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Wang ve ark. 2020B). LPS artışı ile birlikte pro-enflamatuvar sitokin seviyelerinin artışı obezite ile indüklenen yangısal süreci ortaya koymaktadır ve *Desulfovibrio* türünün hem disbiyozisin bir göstergesi olabileceği hem de obezite ile ilişkili patolojilere katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Kolon; *Proteobakteria* filumuna *Parasutterella* (*Betaproteobakteri* sınıfı) ve *Pseudoxanthomonas* (*Gammaproteobakteri* sınıfı) cinsi çalışmamızda dışkıda belirlenemedi ancak kolonik mikrobiyotada belirlendi. Ayrıca *Parasuteralla* cinsine ait

Parasutterella excrementihominis türü de deney grubunda kontrol grubundan istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) oranda yüksekti (Çizelge 4.23).

Parasutterella safra asidi metabolizmasına katılır ve sağlıklı insanlarda *Parasutterella*'nın varlığı ile artmış sekonder safra asidi arasında bir korelasyon vardır (Ju ve ark. 2019). Aksine alkolik karaciğer hastalığı olan bireylerde *Parasutterella* cinsinde azalma ortaya konulmuştur. Sekonder safra asitlerinden olan ursodeoksikolik asit sağlıklı bireylerde hepatoprotektif bir molekül olarak tanımlanmıştır (Llopis ve ark. 2016). Yine bir diğer sekonder safra asidi olan deoksikolik asidin 1/3 - 1/2 kadarı kolondan geri emilir ve enterohepatik siklusa döner (West 1991). Çalışmamızın deney grubunda kolonik mikrobiyotada artan *Parasutterella* cinsi yağ tüketiminin artışı ile ilişkili olarak safra sekresyonunun uyarılması ve sekonder safra asitlerinin kolondan emilerek portal dolaşımla enterohepatik siklusa katılmasını desteklemektedir. Dahası literatür verilerde yapılan çalışmalar dışkı örneklerindendir ve kolon mikrobiyotası değerlendirilmemiştir. Çalışmamızın deney grubunda kolon mikrobiyotasında safra asidi metabolizmasına katılan *parasutterella* artışı, dışkıda yine ikincil safra asidi üretimini sağladığı ortaya konulmuş olan *Bacteroides* cinsine ait *Bacteroides intestinalisin* türünün (Fukiya ve ark. 2009) artışı desteklemektedir.

Bu cinse ait *Parasutterella excrementihominis* türünün bolluğu bazı çalışmalarda enflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, diyabet ve yağlı karaciğer hastalığı gibi farklı sağlık sorunları ile ilişkilendirilmiştir (Morotomi 2014, Shin ve ark. 2015, Blasco-Baque ve ark. 2017). Deney grubu kolon mikrobiyotasında bu türün artması doku düzeyinde artan pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri ile uyumlu idi ve ME'nin patogenezinde rol oynayabileceği düşünüldü.

Çok sayıda hayvan modelinde ve insan çalışmalarında HFD tedavisine yanıt olarak *Parasutterella*'da önemli bir azalma meydana geldiği ortaya konulmuş (Zhang ve ark. 2012, Xie ve ark. 2016, Kreutzer ve ark. 2017) olmasına rağmen yüksek kolesterol ile beslenen sıçanların distal ileumdan alınan dışkı örneklerinde bu cinsin artışı ve bu artışın disbiyozisi temsil ettiğini ifade edilmektedir (Huang ve ark. 2017). Bulgularımız yapılan çalışmalar ile benzer/çelişkili gibi görünse de, *Parasutterella*'nın mikrobiyal aktiviteleri ve konakçı tepkilerini etkilemede fizyolojik özelliklerine ilişkin bilgiler son derece sınırlıdır.

Bu farklılıkların bir diğer nedeni olarak da çalışmalarda kullanılan materyalin dışkı, bizim örneklerimizin ise kolonik mukoza olması düşünülebilir. Çünkü chron hastalarının terminal ileum submukozal örneklerinde *Parasutterella*'nın artışı (Chiodini ve ark. 2015) bizim bulgularımızda benzeşmektedir. Bu nedenle Ju ve ark. (2019) ifade ettikleri gibi bu türün hastalıklar ile ilişkili patolojilere olumlu/olumsuz katkılarının olup olmadığına ilişkin artan sayıda çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

5.2.3.4. *Aktinobakteria*

Dışkı; Gram pozitif bir bakteri olan *Actinobacteria* insan kolonunda en yaygın olan üç filumdan biridir ve özellikle obezite gibi metabolik bozuklukların patofizyolojisinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Abdallah Ismail ve ark. 2011). Turnbaugh ve ark. (2009B) da obez bireylerde Rinninella ve ark. (2019) ise HFD ve batı diyetiyle beslenmede *Actinobacteria* baskın filum olduğunu ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda *Actinobacteria* için filum düzeyinde gruplar arasında fark olmamasına rağmen takım (*Corynebacteriales*, *Eggerthellales*), aile (*Corynebacteriaceae*, *Dermabacteraceae*, *Eggerthellaceae*), cins (*Corynebacterium*, *Brachybacterium*, *Adlercreutzia*) ve tür (*Corynebacterium casei*, *Brachybacterium paraconglomeratum*, *Collinsella aerofaciens*, *Collinsella bouchesdurhonensis*, *Adlercreutzia equolifaciens*) düzeyinde önemli farklılıklar belirlenmiştir (Çizelge 4.22). Yapılan çalışmalara bakıldığında bizim çalışmamızda belirlediğimiz türler hakkında yeterli veriye ulaşamamıştır.

Bu filuma ait *Corynebacterium* türlerinden olan *Corynebacterium bouchesdurhonense* ve *Corynebacterium provencense* ilk defa obez Fransız bireylerde (Lo ve ark. 2019), patojenik olmayan *Corynebacterium* türleri de sıklıkla çiğ süt veya çiğ süt ürünlerinden izole edilmiştir (Weber ve ark. 2014). Bu türlerden bazılarının gıda işlemede faydalı işlevleri vardır. Mesela *Corynebacterium glutamicum* ve *Corynebacterium variable* türleri aminoasit üreticileridir (Fricker ve ark. 2011) ve olgunlaştırılmış peynirin yüzeyinde tadına katkıda bulunan *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium mooreparkense*, *Corynebacterium ammoniagenes* ve *Corynebacterium stationis* gibi bazı türler de vardır (Brennan ve ark. 2001). Yine *Corynebacterium* cinsinden bakterilerin HFD'le beslenenlerin derisinde baskın bakteri olduğunu, ancak normal diyet grubunda miktar bakımından güçlkle tespit edilebildikleri ortaya konulmuştur (Moestrup ve ark. 2018). Brandwein ve ark. (2019)'da deri, oral mukoza ve bağırsakta mikrobiyom

çalışmaları sonucunda deride *Corynebacterium* baskın olduğunu ortaya koyarak obezitenin ve potansiyel olarak diğer metabolik hastalıkların cilt mikrobiyomunu değiştirdiğini ifade etmişlerdi. *Corynebacteriales* takımı, *Corynebacteriaceae* ailesi, *Corynebacterium* cinsi ve *Corynebacterium casei* türü çalışmamızın kontrol grubunda deney grubundan daha yüksek ve anlamlı ($p<0,05$) idi. Her ne kadar literatür verileri uyumsuz görünse de çalışmanın materyalinin dışkı olması ve literatür verilerden farklı türlerde gruplar arası farklılıkların belirlenmesi bu olasılığı dışlamaktadır. Bu bulgunun diagnostik olup olmadığının anlaşılması için ise daha çok çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Actinobacteria içindeki *Coriobacteriia* sınıfındaki *Eggerthella* ve *Adlercreutzia*, konakçı lipid metabolizması ile pozitif olarak ilişkilendirilmiş ve majör hepatik detoksifikasyon aktivitesinin stimülasyonunda rol oynamıştır (Maruo ve ark. 2008, Franz ve ark. 2016). Bu literatürlerle uyumlu olarak Eggerthellaceae ailesindeki *Adlercreutzia* cinsine ait *Adlercreutzia equolifaciens* türü kontrol grubunda belirlenememesine karşın deney grubunda belirlenebilmiş ve istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,05$). *Adlercreutzia*'daki artış diyet içeriğindeki her hangibir besinle ilişkili olmaksızın, aşırı kilolu gruba kıyasla obez grupla önemli ölçüde artmış ve obezite ile ilişkilendirilmiştir (Yun ve ark. 2017). İlginç şekilde obezlerde gözlenen bel ağrısının, muhtemelen artan iltihaplanma ve değişen bağırsak mikrobiyotası bileşimi ile ilişkili olduğu düşünülmüş ve altta yatan mekanizmaları tanımlayan daha ileri çalışmaların ağırlıklı olarak bel ağrısı artışı ve BMI ile pozitif ilişkisi bulunan *Adlercreutzia*'daki bolluğu azaltmaya yönelik olması önerilmiştir (Dekker Nitert ve ark. 2020). BMI ve Lee Index'leri özellikle son 2 hafta istatistiki olarak yüksek olan deney grubunda artan *Adlercreutzia* cinsine ait *Adlercreutzia equolifaciens* türünün obezitenin patogenezinde rol oynayabileceği, disbiyozisi gösterebileceği fakat tür düzeyinde yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Brachybacterium cinsi *Micrococcales* takımının bir üyesidir ve yaşla birlikte değişen bağırsak mikrobiyotası içerisinde 18 haftalık obez farelerde *Pseudonocardia* ve *Bacteroidales* ile birlikte artmıştır (Yang ve ark. 2019). Bu cinse ait *Brachybacterium paraconglomeratum* türü çalışmamızın deney grubunda yoktu ancak kontrol grubunda düşük yüzdelerde mevcuttu ve gruplar arasından istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) fark vardı. Bu tür ile obezite, HFD ya da ME hakkında henüz yapılmış bir çalışmaya rastlanmamış olmasına rağmen birkaç çalışmada enfeksiyon ajanı olarak izole edildiği

ifade edilmektedir (Murata ve ark. 2020, Tamai ve ark. 2018). Çalışmamızda bu türsağlıklı kontrollerin dışkısında belirlenmiş ancak yapılan çalışmalar sistemik enfeksiyon ve göz enfeksiyonunda bu türün izole edildiğini ortaya koymuştur. Bu açıdan ele alındığında bu tür dışkıda sağlıklı mikrobiyomu temsil edebilirken, literatürlerden de anlaşılabileceği gibi vücudun diğer kısımlarında bir enfeksiyon ajanıdır.

Aktinobakteri filumunun *Coriobacteriaceae* ailesinin bir diğer cinsi olan *Collinsella*'ya ait *Collinsella aerofaciens* ve *Collinsella bouchesdurhonensis* türleri kontrol grubunda deney grubuna göre yükselmiş ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. *Coriobacteriaceae* ailesinin üyeleri pathobionts olarak kabul edilir ve *Collinsella* baskın taksonudur (Chow ve ark. 2011). Bağırsak kolesterol emilimini değiştirerek, karaciğerde glikojenezi azaltıp TG sentezini artırarak metabolizmayı etkileyebilirler. *Collinsella*'nın konakçı metabolizmasını ne şekilde etkilediğinin moleküler mekanizmaları bilinmemektedir (Ridlon ve ark. 2006). Yine *Collinsella*'nın enterositlerdeki TJP'nin ekspresyonunu azalttığını ve ME ile ilişkili bağırsak sızıntısını uyardığı ortaya konulmuştur (Cani ve ark. 2009, Chen ve ark. 2016).

Collinsella aerofaciens obez ve kilolu BMI sahip ve işlenmiş gıda tüketenlerde bol miktarda bulunmuştur (Davis ve ark. 2017). Gallardo-Becerra ve ark. (2020)'de *Coriobacteraceae*, *Collinsella* ve *Collinsella aerofaciens*'in artışlarının obezite için biyobelirteç olduğunu ortaya koymuşlardır.

Collinsella cinsine bağlı *Collinsella aerofaciens* türünün alt türlerinin butirik asit üretme kabiliyetine sahip olduğunu Qin ve ark. (2019) bildirmişlerdir. Obezite ve hastalıklar ile ilişkilendirilen ve literatürlerin aksine, kontrol grubumuzda artan *Collinsella aerofaciens*'in sağlıklı bir mikrobiyomu temsil edebilecek bir tür olduğu düşünülebilir. Çünkü bağırsak mikrobiyal fermantasyonunun bir ürünü olan bütirat, kolon sağlığında önemli bir rol oynar ve epitel hücreleri için bir enerji kaynağı görevi görür. Ayrıca bütirik asit üreten bakterilerin enflamatuvar bağırsak hastalığını, tip 2 diyabeti ve obeziteyi hafifletebileceğini öne sürmüştür (Geirnaert ve ark. 2015). Kontrol grubundaki artışlar kolonik dokunun bütünlüğünün korunduğunun bir göstergesi olabilir ve bunu kontrol grubunda artış gözlenmeyen pro-enflamatuvar sitokin seviyeleride desteklemektedir. Bu

tür ile ilgili daha kontrollü diyet çalışmalarının yapılması ve SCFA düzeylerinde araştırılması gerektiğinde düşünülmektedir.

Collinsella bouchesdurhonensis ise ilk defa 2016 yılında Bilen ve ark. (2016) tarafından 50 yaşında sağlıklı bir kadının dışkılarından izole edilerek tanımlanmıştır. Bu tür hakkında da yeterli veriye ulaşılamamıştır ve *Collinsella aerofaciens*'da olduğu gibi kontrol grubunda belirlenirken ondan farklı olarak deney grubunda hiç belirlenememiş olması sağlıklı ilişkilendirilebilecek bir tür olabileceğini düşündürmektedir.

Kolon; *Actinobacter* filumuna ait kolonik mikrobiyotada anlamlı farklılıklar gözlenmezken takım (*Actinomycetales*, *Eggerthellales*), aile (*Actinomycetaceae*, *Micrococcaceae*, *Eggerthellaceae*), cins (*Enteractinococcus*, *Adlercreutzia*, *Enterorhabdus*), ve tür (*Corynebacterium urealyticum*, *Enteractinococcus Lamae*, *Adlercreutzia Equolifaciens*, *Enterorhabdus Muris*) düzeyinde anlamlı farklılıklara rastlandı (Çizelge 4.23).

Kashiwagi ve ark. (2019) mukoza ilişkili mikrobioya hakkında alt ve üst gastrointestinal sistemi araştırarak şekilde detaylı bir çalışma yapmışlardır ve *Actinomycetaceae*, *Micrococcaceae* ve *Eggerthellaceae* ailesinin üst gastrointestinal mukozada yoğunlukta olduğunu ortaya koymuşlardır. Aksine çalışmamızda deney grubunda distal kolon mukozasında istatistiki olarak artış gösteren *Actinobacter*'e ait bu aileler gastrointestinal geçiş ve disbiyozis ile ilişkilendirilmiştir. Masoodi ve ark. (2020) İrritabl barsak sendromu hastalarında sekum ve kolondan aldıkları endoskopik yıkama örneklerinde *Actinobacter* yüzdelerinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde çalışmamızda da tür düzeyine kadar bütün bakteriler deney grubunda istatistiki olarak artış göstermiştir. Literatür verileriyle uyumlu olan bu bulgu kolonik mukozal disbiyozisin en önemli bileşeninin aktinobakter olduğunu gösterebilir. Diğer taraftan *Adlercreutzia Equolifaciens*'ın hem dışkı hem de kolonik mukozada deney grubunda daha yüksek ve anlamlı olması dışkı mikrobiyotasına ilişkin anlatılan literatürlerle uyumlu olarak obezite ile ilişkili disbiyozisle ilişkilendirilmiştir (Çizelge 25-26).

Eggerthellaceae ailesi, *Enterorhabdus* cinsi ve *Enterorhabdus muris* türündeki artışlar ise aynı cinse ait iltihaplı bağırsak mukozası ile ilişkili olan *Enterorhabdus mucosicola* artışı (Clavel ve ark. 2009) ile paralellik göstermiştir.

Corynebacterium urealyticum, Gram pozitif aerobik *Corynebacterium* cinsine ait bir bakteri türüdür. Sağlıklı insanlarda yaygın olarak bulunmaz. Adından da anlaşılacağı gibi *Corynebacterium urealyticum*, idrarı alkali yapacak kadar güçlü olabilen üreaz enzimini salgılar (Pitcher ve ark. 1991). Ayrıca bu tür romatoid artritde otoimmünite ve pro-enflamatuvar sitokin ifadelerinin artışı ile ilişkilendirilmiştir (Pan ve ark. 2019). Bu kaynaklardan başka literatüre ulaşamadığımız *Corynebacterium urealyticum* genel anlamda patojen bir tür olması ve enflamatuvar süreci başlatmasından dolayı HFD'le uyarılan obezitenin patogeneğinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Enteractinococcus lamae ilk olarak 2015 yılında Chen ve ark. tarafından hayvan dışkılarından izole edilmiştir. *Micrococcaceae* ailesinin bir üyesidir ve yangısal bağırsak hastalığında bu ailede artış gözlenmiştir (Imhann ve ark. 2018). *Actinobacter* filumunun aile ve cins düzeyinde deney grubunun artan üyelerinin pro-enflamatuvar sitokin seviyelerinin artışı ile doğru orantılı olması kolon mikrobiyotasında *Actinobacter*'in ME'yi indükleyebileceğini gösterebilir.

Turnbaugh ve ark. (2009B) ve Abdallah Ismail ve ark. (2011)'de obezite ve metabolik bozuklukların patofizyolojilerinde önemli rollerinin olduğunu ifade ettikleri bu filuma ait taksonomik alt birimlerin tamamı deney grubunun kolonik mikrobiyomunda belirlenmiş ve istatistiki olarak anlamlı idi. Dışkıda bu filumun bazı türlerinde anlamlı artışların ($p < 0,05$) kontrol grubunda belirlenmesine rağmen kolonik mikrobiyomda yalnızca deney grubunda olması bu filumun obezitenin ve obezite ile ilişkili özellikle mukozada meydana gelen patolojik değişiklikler ve ME için disbiyozisin göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

5.2.3.5. *Firmicutes*

Dışkıda en yoğun bulunan bir diğer bakteri olan *Firmicutes*'lerde filum düzeyinde gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunmamasına rağmen sınıf seviyesinde *Erysipelotrichia*, takım seviyesinde *Erysipelotrichales* ve *Acidaminococcales*, aile seviyesinde, *Eubacteriaceae*, *Erysipelotrichaceae* ve *Acidaminococcaceae*, cins seviyesinde *Eubacterium*, *Allobaculum*, *Phascolarctobacterium*, tür seviyesinde ise *Lactobacillus faecis*, *Eubacterium coprostanoligenes*, *Eubacterium ruminantium*, *Blautia wexlerae*, *Ruminococcus bromii*, *Ruminococcus champanellensis*, *Allobaculum*

stercoricanis ve *Phascolarctobacterium succinatutens* yüzdeleri kontrol grubunda artmış ve istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$). Bunlardan *Eubacteriaceae*, *Eubacterium*, *Allobaculum*, *Eubacterium coprostanoligenes*, *Eubacterium ruminantium*, *Ruminococcus bromii*, *Allobaculum stercoricanis* ve *Phascolarctobacterium succinatutens* deney grubunda belirlenememiştir (Çizelge 4.22).

Aile seviyesinde deney grubunda artanlar *Clostridiales incertae sedis*, *Oscillospiraceae*, *Streptococcaceae* ve *Lachnospiraceae*, cins seviyesinde *Streptococcus*, *Clostridiales Family XIII. Incertae Sedis*, *Acetatifactor*, *Dorea*, *Eisenbergiella*, *Faecalimonas*, *Kineothrix*, *Lachnoclostridium*, *Marvinbryantia*, *Robinsoniella*, *Roseburia*, *Oscillibacter*, *Acetivibrio*, *Acutalibacter*, *Harryflintia*, *Negativibacillus* ve *Pseudoflavonifractor*, tür seviyesinde ise *Staphylococcus cohnii*, *Streptococcus peroris*, *Ihubacter*, *Acetatifactor muris*, *Dorea longicatena*, *Faecalimonas umbilicata*, *Kineothrix alysoides*, *Lachnoanaerobaculum umeaense*, *[Clostridium] sphenoides*, *[Desulfotomaculum] guttoideum*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Robinsoniella-peoriensis*, *Roseburia faecis*, *Oscillibacter ruminantium*, *Acetivibrio ethanolgignens*, *Acutalibacter muris*, *Harryflintia acetispora*, *Negativibacillus massiliensis*, *Pseudoflavonifractor capillosus* yüzdeleri deney grubunda artmış ve istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$). Bunlardan yine *Acetatifactor*, *Marvinbryantia*, *Robinsoniella*, *Acutalibacter*, *Harryflintia*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Robinsoniella peoriensis*, *Acutalibacter muris*, *Harryflintia acetispora* ve *Pseudoflavonifractor capillosus* kontrol grubunda belirlenememiştir (Çizelge 4.22).

Çalışmamızın bu verilerinden de anlaşılacağı gibi dışkıda hem deney hem de kontrol grubunda *Firmicutes* filumu ve buna ait alt taksonlar yoğunlukta ve daha önce bahsedilen literatürler ile uyumlu olarak çeşitliliğin çoğunun kaynağı bu filumdur. Ayrıca deney grubunun filum düzeyinde yüzdeleri, kontrol grubundan yüksek ancak istatistiki fark yoktu.

Dışkı; Yağ bakımından zengin diyetle beslenen farelerde, bağırsak mikrobiyota bileşimi 24 saat içinde değişmiş, *Firmicutes* filumuna ait bakteri seviyelerinde, özellikle de *Erysipelotrichia* sınıfında artışlar meydana gelmiştir (Turnbaugh ve ark. 2009A, Hildebrandt ve ark. 2009). Ayrıca kolin eksikliğine bağlı gelişen karaciğer yağlanması

hastalarda da *Erysipelotrichia* seviyeleri yükselmiştir (Spencer ve ark. 2011). Yapılan çalışmaların aksine filum seviyesinde gruplar arasında fark bulunmamasına rağmen sınıf ve takım seviyesinde *Erysipelotrichia* kontrol grubunda artmış ve istatistiki olarak önemli idi ($p<0,05$).

Aynı filumda olan bir diğer takım olan Acidaminococcales, karbonhidrat metabolizmasının ve obeziteyle birlikte T2DM için önemli biyobelirteç olup T2DM tedavisi için *Bacteroides plebeius*, *Phascolarctobacterium* ve *Acidaminococcalesi* içeren üç kritik bakteri taksonunun potansiyel olarak kullanılabileceği Wang ve ark. (2020A) tarafından ifade edilmiştir. Serena ve ark. (2018)'de obez bireylerde süksinat tüketen *Phascolarctobacterium* türlerinde bir azalma belirlemişlerdir. Bu bulgu bizim bulgularımızla benzemektedir. Çünkü çalışmamızın kontrol grubunda *Acidaminococcaceae* ailesi, *Phascolarctobacterium* cinsine ait *Phascolarctobacterium succinatutens* yüzdeleri deney grubunda düşük kontrol grubunda anlamlı ($p<0,05$) oranda yüksek belirlenmiştir.

Aslında bu bulgular son ürünü süksinik asit olan *Prevotella stercorea* türünün (Hayashi ve ark. 2007) deney grubunda artması ve süksinik asit tüketen *Phascolarctobacterium succinatutens* türünün düşmesi ile obeziteyi işaret edebilir. Ancak sağlıklı bir mikrobiyomun yanı sıra mikrobiyotadan türetilmiş süksinatın konakçı besin metabolizmasını düzenleyen periferik dokulardaki spesifik fonksiyonları hakkında bilinmeyen çok fazla şey vardır ve çalışmalar halen devam etmektedir (Fernández-Veledo ve ark. 2019).

Zeng ve ark. (2016) uzun süreli HFD'le beslenmede *Lachnospiraceae* ve *Streptococcaceae*'nin obezite ile ilişki inflamasyonda arttığını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde *Lachnospiraceae* ve *Streptococcaceae* yüzdeleri deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi. Ayrıca bu bulgular doku düzeyleri artan sitokin (IL-6 ve TNF- α) seviyeleri ile uyumlu idi.

HFD'le beslenme ile yine *Lactobacillus*, *Clostridium XIVb*, *Prevotella*, *Anaerovibrio*, *Eubacterium*, *Parabacteroides azalırken Clostridium IV*, *Oscillospira* önemli oranda artmaktadır (An ve ark. 2018). Daha önceki araştırmalar ise *Eubacterium* ve *Clostridium XIVb*'nin anti-obezite etkisi olan SCFA'lerden biri olan bütirat üretebileceğini

bildirmişlerdir (Louis ve Flint 2009). Mevcut çalışmada da *Eubacterium* deney grubunda belirlenememesine rağmen kontrol grubunda varolup istatistiki olarak anlamlı idi.

Daha az protein ve kolesterol tüketen kişilerde *Oscillospira*'nın baskınlığında Garcia-Mantrana ve ark. (2018) tarafından ifade edilmiştir ve çalışmamızda deney grubundaki Oscillospiraceae ailesine ait cins ve türlerde artışlar bu çalışma ile uyumludur. Bulgularımız diyetle indüklenen obezite sonucunda meydana gelen disbiyozisin göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Eubacteriaceae ailesi *Eubacterium* cinsinin bir üyesi olan *Eubacterium coprostanoligenes* türü kolesterolün koprostanole dönüşmesi sağlayan bağırsak mikroorganizmalarından olduğu ortaya konulmuştur (Ren ve ark. 1996). *Eubacterium ruminantium*'da kolesterol metabolizması ile ilişkili olup bütürat üretimini indükler ve obezlerde düşük yüzdelerde belirlenir (Korpela ve ark. 2014). Aynı zamanda vücut yağı ile ters orantılıdır (Sergeev ve ark. 2020). Bu iki tür *Eubacterium*'da literatür verileri uyumlu olarak deney grubumuzda belirlenemedi, aksine kontrol grubunda istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) oranlarda mevcuttu.

Staphylococcus cohnii deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. Çalışmamızda diğer bazı türler gibi *Staphylococcus cohnii* türü hakkında da yeterli kaynağa ulaşamamıştır. Ancak bu türün üyesi olduğu Bacillales takımı obez farelerde daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Artan *Bacillales* sayısı, öncelikle bu türe ait *Staphylococcaceae* ailesi ve *Staphylococcus* cinsinde artan bakteri seviyelerinden kaynaklanmaktadır (Hakkak ve ark. 2017). HFD'le oluşturduğumuz obezite modelinde bu türün artışı hakkında yeni ve daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Lactobacillus'lar son yıllarda probiyotik olarak yaygın kullanım alanı bulmuşlardır. Crovesy ve ark. (2017)'de yaptıkları derlemede bu cinse ait farklı türlerin kilo artışı ya da azalması ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Bizim metagenom analizlerimizde burada bahsi geçen türlerden başka kontrol grubunda *Lactobacillus faecis* türü anlamlı yüzdelerde ($p<0,05$) belirlenmiş fakat deney grubunda hiç belirlenememiştir. Bu da *Lactobacillus* türleri ile ilgili hem konağın türü hem de diyet bileşenlerindeki farklılıkların rolünü ortaya koymaktadır. Endo ve ark. (2013) *Lactobacillus faecis*'i ilk defa bir çakalın

dışkısından izole etmişlerdir. Bu literatür bilgi dışında yeterli veriye ulaşılamamasına ve bazı *Lactobacillus* türlerine benzer şekilde sağlıklı mikrobiyomu temsil edebileceği düşünülmese de rağmen bu bulgu yeni çalışmalar ile desteklenmelidir.

Obez çocukların bağırsak mikrobiyotasında özellikle *Blautia luti* ve *Blautia Wexlerae* türlerinde azalma ve dışkılarında pro-enflamatuvar sitokinler ve kemokinlerde artış gözlenerek bu türlerde meydana gelen azalma hem obezite hem de insülin direnci ile ilişkilendirilmiştir (Benítez-Páez ve ark. 2020). Deney grubunda belirlenemeyen *Blautia Wexlerae*'nin kontrol grubunda istatistiki olarak anlamlı belirlenmesi ($p<0,05$) bu türün sağlıklı bir mikrobiyom türü olduğunu gösterebilir.

Ruminococcus türleri, endospor üretmeyen ve büyümeleri için fermente edilebilir karbonhidratlara ihtiyaç duyan, anaerobik, Gram pozitif, hareketsiz koklar olaraktanımlanır (Rainey 2009). İnsanlarda *Ruminococcus bromii* bolluğu dirençli nişasta bakımından zengin diyetle uyarılmıştır (Walker ve ark. 2011). Çok düşük yüzdelerdekarbonhidrat ve lif içeren diyetle beslenen deney grubumuzda bu tür belirlenememiş ancak kontrol grubunda belli yüzdelerde var ve anlamlı ($p<0,05$) idi. Diğer bir tür olan *Ruminococcus champanellensis* ise insan kolonundan izole edilen, kristal selülozu parçalayabilmesi ile bilinen tek bakteri türüdür (Moraïs ve ark. 2016). Yine bu türde kontrol grubunda görülmüştür ve istatistiki olarak anlamlıdır. Deney ve kontrol grubu arasındaki bu farklılıklar diyet bileşenleri ile ilişkilendirilmiş ve bu türlerin sağlıklı mikrobiyomun üyeleri olduğu düşünülmüştür.

Clostridiales Incertae Sedis ailesi, *Clostridiales Family XIII. Incertae Sedis* cinsine ait *Ihubacter* türü deney grubunda arttı ve istatistiki olarak anlamlı idi. HFD'le beslenen sıçanların diyetine geleneksel Çin tıbbına ait antioksidan ilavesi ile *Ihubacter* türü azaltılabılmıştır (Wang ve ark. 2020B). *Ihubacter* türü hakkında daha fazla çalışmaya rastlanmamış olup HFD'le indüklenen obezitede ME'ye katkı sağlayabilecek disbiyotik bir mikrobiyom türü olduğu düşünülmüştür.

Acetatifactor muris obez farelerin bağırsaklarından izole edilmiş ve yine domuz yağ oranı yüksek olan bir diyetle beslenme sonrasında bu türde artışlar gözlemlenmiştir (Pfeiffer ve ark. 2012, Kübeck ve ark. 2016). Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda

belirlenemeyen bu türün deney grubunda gözlenmesi HFD ile artırılan bir tür olduğunu düşündürmüştür.

Ruminococcus torques, insanlarda müsin yıkıcı bir bakteridir (Hoskins ve ark.1985). Allin ve ark. (2018)'de prediyabet hastalarında cins düzeyinde *Clostridium* bolluğu azalırken, *Dorea*, [*Ruminococcus*], *Sutterella* ve *Streptococcus* bolluğunun arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca bu artış açlık plazma glukoz ve C-peptit düzeyleri ile HOMA-IR, HbA1c, BMI ve bel çevresi ile pozitif korelasyon göstermiştir. Biz de deney grubunda *Dorea* cinsine ait *Dorea longicatena* ve *Streptococcus* ailesine ait *Streptococcus peroris* yüzdelelerini anlamlı ($p<0,01$) oranda yüksek olarak belirledik.

Firmicutes filumu *Clostridia* sınıfı *Clostridiales* takımı *Lachnospiraceae* ailesi *Eisenbergiella* cinsi deney grubunda yüksek ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. Ancak tür düzeyinde gruplar arasında bir farklılık gözlenmedi. Bu bulgu Dong ve ark. (2019) yaptıkları çalışma ile uyumlu idi ve HFD'le beslenme ve obezitede belirleyici olabileceği düşünüldü.

Faecalimonas cinsine ait *Faecalimonas umbilicata* ilk olarak Sakamoto ve ark. (2017) insan dışkıсында tanımlanmış ancak bu tür ile ilişkili detaylı çalışmalara ulaşılamamıştır. Bizim çalışmamızda ise bu tür deney grubunun dışkıсында artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) idi. Öte yandan bu türün üyesi olduğu *Lachnospiraceae* ailesi hakkında yapılan çalışmalarda obez ve obezite ile birlikte metabolik sendrom gelişen grupta bu aileye ait bazı türlerde artış belirlenmiştir (Chávez-Carbajal ve ark. 2019). Bu aile, İngiliz erkeklerde diyetle ilişkili obezite ile de ilişkilendirilmiştir (Salonen ve ark. 2014). Bu aileye ait artan bu tür obezite ile ilişkili mikrobiyomu temsil edeceğini düşündürmüştür

Kineothrix alysoides son yıllarda *Clostridium XIVa*'ya ait yeni tanımlanan bir sakkarolitik bütirat üreticisi (Haas ve Blanchard 2017) ve bunun yanı sıra diyet polisakkaritlerini portal ven yoluyla karaciğere ulaştıran asetatin da dahil olduğu SCFA'lere indirgemektedir (Den Besten ve ark. 2013). Chen ve ark. (2020)'çalışmalarında belirtildiği üzere, bu tür sağlıklı bir mikrobiyotayı göstermenin ($>75\%$) yanı sıra karaciğer patolojisi ile ilişkili olabilmektedir ($25-50\%$). Bizim bulgularımızda *Kineothrix* cinsi içerisinde olan *Kineothrix alysoides* türünde deney grubunda artış belirlenmiş ve

istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. Bu bulgu literatür veriler göz önüne alındığında HFD'le ilişkili karaciğer patolojilerinin bir göstergesi olabilir.

Lachnoanaerobaculum umeaense, Hedberg ve arkadaşları tarafından 2012 yılında insan bağırsağından izole edilmiş *Lachnoanaerobaculum* cinsine ait Gram pozitif, zorunlu anaerobik, sakarolitik, proteolitik olmayan ve spor oluşturan bir bakteri olarak tanımlanmıştır. Yine Andoh ve ark. (2016) zayıf bireylerde bu türün üyesi olduğu aile olan *Lachnoanaerobaculum* artışını ortaya koymuşlardır. Aksine bizim bulgularımızda aile düzeyinde fark görülmemiş olmasına rağmen tür düzeyinde *Lachnoanaerobaculum umeaense* deney grubunda yüksek ve anlamlı idi. Ancak bu bulguyu destekleyecek herhangi bir literatür veriye rastlanmamış ve bu tür hakkında obezite ve ME ile ilgili çalışmaya ulaşılamamıştır.

HFD'le oluşturulan obezite ile *Lachnoclostridium* spp. artışı pozitif korelasyon göstermiştir. Ek olarak, *Bakteroides* spp. ve *Ruminococcaceae* spp. gibi obezite ile negatif ilişkili olan bazı bakteriler tanımlanmıştır (Duan ve ark. 2019). Kolorektal adenomuninvasif olmayan teşhisi için yeni bir bakteriyel belirteç olarak *Lachnospiraceae* tanımlanmıştır (Liang ve ark. 2020).

Lachnoclostridium cinsine ait olan [*Clostridium*] *sphenoides* türü yüksek olan obez bireyler basit diyet müdahaleleri ile lipid metabolizması açısından fayda sağlayabilir. Buna rağmen [*Clostridium*] *sphenoides*'in yüksekliği kolesterol seviyeleri ile ilişkili değildir ve daha ziyade iyileştirilmiş diyet üzerine katkıda bulunabilecek bir bağırsak ekosisteminin göstergesi olabilir. Bizim çalışmamızda da *Fimicutes* filumunun üyelerinden olan hem *Lachnospiraceae* cinsi hem de [*Clostridium*] *sphenoides* türü obez deneklerimizde dışkıda artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi.

Desulfotomaculum, Gram pozitif, zorunlu anaerobik toprak bakterilerinin bir cinsidir. Bir tür sülfat azaltıcı bakteri olan *Desulfotomaculum*, kötü işlenmiş konserve gıdalarda yiyeceklerin bozulmasına neden olabilir. Varlıkları, kutu ilk açıldığında çürük yumurta kokusu ve hidrojen sülfür gazının salınmasıyla belirlenebilir. Endospor oluşturan bakterilerdir. Kükürt gazları, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter*, *Desulfomonas* ve *Desulfobulbus* cinsi gibi sülfat indirgeyen bakteriler tarafından üretilir ve hayvanlar arasındaki kükürt gazı üretimindeki farklılıklar muhtemelen mikrobiyotadaki farklılıkları

temsil eder (Gibson ve ark. 1988). Bizim çalışmamızda da *[Desulfotomaculum] guttoideum* türü deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) idi. Bu tür ile ilgili yeterince literatüre ulaşılamamış ve referans niteliğindedir. Sülfat indirgeyen bakterilerin yangısal bağırsak hastalığının patogenezindeki rolü, metabolik son ürünü olan hidrojen sülfatın sitotoksik bir bileşik olmasındandır (Gibson ve ark. 1991, Babidge ve ark. 1998). Bu bileşik, kolonositler için ana enerji kaynağı olan bütirat oksidasyonunun inhibe ederek bağırsak epitelinin işlevlerinin bozulması, hücre ölümü ve kronik iltihaplanmayayol açar (Loubinoux ve ark. 2002). Bu bilgiler göz önüne alındığında *[Desulfotomaculum] guttoideum* türünün epitel hasarına katkıda bulunarak ME'ye bağlı gelişen enflamatuvar sürece katkıda bulunduğu düşünülebilir.

Marvinbryantia formatexigens fiberden yoksun diyetle beslenme sonrasında azalmaktadır (Desai ve ark. 2016). Çünkü *Marvinbryantia formatexigens* oligosakkaritleri tüketir, bağırsağın redoks durumunu etkilemez ve süksinat verimini artırır (Rey ve ark. 2010). Süksinat seviyelerinin bağırsak lümeninde artışı ise hayvan modellerinde dysbiosis ve yangısal bağırsak hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (Connors ve ark. 2018). Bu bağlamda ele alındığında deney grubunda artmış ve kontrol grubundabelirlenemeyen *Marvinbryantia* cinsine ait *Marvinbryantia formatexigens* türü yüzdeleri diyete bağlı meydana gelen disbiyozisin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Bir diğer süksinat üreten Gram-pozitif ve hareketsiz bakteri türü *Robinsoniella peoriensis*'dir ve başlıca son ürün asetat ve süksinat olup bütirat üretimine katkısı yoktur (Cotta ve ark. 2009). Çalışmamızda kontrol grubunda *Robinsoniella* cinsine ait *Robinsoniella peoriensis* türü belirlenemedi. Deney grubunda anlamlı ($p<0,01$) oranda yüksekti fakat bu bulgu Wang ve ark. (2016)'ın HFD'in *Robinsoniella peoriensis* üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olabileceğini ifade ettikleri çalışmaları ile uyumlu değildi. Bunun sebebi, adı geçen araştırmada materyal olarak HFD'e ilave edilen sukrozun sonuçları etkileyeceği ve sonuçlar arasındaki farklılığın diyet içeriği ile ilgili olduğu kanaatine varıldı.

Roseburia faecis ilk olarak insan dışkılarından izole edilmiş bir bakteridir. Anaerobik, Gram negatif veya Gram değişkenli, hafif kavisli çubuk şekilli ve hareketlidir (Diane ve ark. 2013). Tamanai-Shacoori ve ark. (2017) ise Gram pozitif bir bakteri olarak tanımlamış ve beş türü (*Roseburia intestinalis*, *R. hominis*, *R. inulinivorans*, *R. faecis* ve *R.*

Cecicola) olduğunu söylemişlerdir. Bu türlerden sadece *Roseburia faecis* çalışmamızın deney grubunda artmış (Çizelge 25) ve istatistiki ($p<0,01$) olarak anlamlıdır. *Roseburia intestinalis* SCFA'nden özellikle bütirat üreten komensal bakterilerin parçasıdır ve kolon hareketliliğini, bağışıklığın sürdürülmesi ve iltihap önleyici etkileri vardır (Harschve Konturek 2018). *Roseburia* türündeki değişiklikler, farklı metabolik yolları aktive eder ve çeşitli hastalıklarla ilişkilidir (irritabl bağırsak sendromu, obezite, Tip 2 diyabet, sinir sistemi koşulları ve alerjiler dahil). Düşen *Roseburia* spp. semptomatik patolojiler için biyobelirteçler (örn. safra taşı oluşumu) veya faydalı floranın restorasyonu için probiyotikler olarak da kullanılabilirler (Tamanai-Shacoori ve ark. 2017). Yapılan pek çok çalışmada *roseburia* cinsine ait total bakteri yoğunluğu değerlendirilmiş, bazılarında ise *R. İntestinalis* ele alınmıştır. Ancak bizim sonuçlarımız *Roseburia faecis*'in artışı yönünde olup diğer çalışmalardan tür olarak farklılık göstermektedir. Bu bulguyu Andoh ve ark. (2016) obez ve zayıf bireylerde *Roseburia*'ya ait mikrobiyal türlerdeki artışı ortaya koydukları çalışma desteklemektedir. Çalışmada obezlerde *Roseburia faecis*, zayıfbireylerde ise *Roseburia hominis* yüzdesinin artışı ortaya konulmuştur.

Oscillibacter ruminantium ilk olarak 2013 yılında sığırlarda rumende izole edilen Gram negatif, aneorobik ve sporsuz bir bakteridir (Lee ve ark. 2013). Azaltılmış karbonhidrat içerikli kilo verme diyetine geçen bireylerde miktarlarının arttığı belirlenmiştir (Walker ve ark. 2011). Ayrıca *Oscillibacter*'in bazı türleri farklı düzeylerde bütirat üretmektedir (Gophna ve ark. 2017). Bizim çalışmamızda da *Oscillibacter ruminantium* yüzdeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. *Oscillibacter ruminantium*, *Colostridia* sınıfına ait bir bakteri türüdür. *Clostridium Cluster XIVa* ve *Clostridium Cluster IV*'ten *Clostridia* suşlarının in vitro pro-enflamatuvar sitokin yanıtı başlattığı gösterilmiştir (Tuovinen ve ark. 2013) ve *Oscillibacter* cinsi de bağırsak geçirgenliği ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir (Lam ve ark. 2011). Lam ve ark. (2012) yüksek yağlı diyetle (%60) besledikleri obez sıçanlarda *Oscillibacter* seviyelerinin arttığını ve proksimal kolonda transepitelyal dayanıklılığın bozulduğunu belirlemişlerdir. Bu bulgular bizim çalışmamız ile uyumlu olup ME'yi destekleyen bulgulardan olup *Oscillibacter ruminantium* disbiyozisile ilişkilendirilebilir.

Acetivibrio cinsi *Firmicutes* filuma aittir. Gastrik ve pankreatik lipazı dönüşümlü inhibe eden ve böylece TG hidrolizini bloke ederek yağ absorbsiyonunu %30 azaltan

orlistat (Sjöström ve ark. 1998) kullanılan obez farelerde *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Roseburia*, and *Acetivibrio* cinslerinde artış gözlemlenmiştir (Ke ve ark. 2020). Bizim çalışmamızda ise deney grubunda *Acetivibrio* cinsine ait *Acetivibrio ethanolgignens* yüksek yüzdelerde belirlenmiş ve istatistiki olarak anlamlıdır. Literatür veriler ile çalışmamız arasındaki fark taksonomik sınıflandırma ile ilişkilendirilmiştir.

Acetatifactor muris ilk defa 2012 yılında Pfeiffer ve ark. tarafından obez bir farenin bağırsaklarından izole edilmiştir. Bizde obez sıçanlarımızın dışkılarında bu türü istatistiki olarak anlamlı belirledik ancak kontrol grubunda yoktu ve bu türün obez disbiyozisin bir göstergesi olabileceği düşünüldü.

Harryflintia cinsine ait *Harryflintia acetispora* obezite ile de ilişkilendirilen osteoartritli hastaların dışkı mikrobiyotasında artmıştır ve yangısal süreçleri içeren osteoartritte disbiyozis ortaya konulmuştur (Lee ve ark. 2019). Bu tür ilk olarak tavuk sekumundan izole edilmiş Gram negatif bir bakteridir (Petzoldt ve ark. 2016). Bizde kontrol grubumuzda belirleyemediğimiz bu türü deney grubunda belirledik ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. Bu türün ilk defa HFD'le beslenen sıçanlarda ortaya konulması prognostik bir değerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Firmicutes filumu, *Ruminococcaceae* ailesine ait *Negativibacillus* cinsi ve bu cins içerisindeki *Negativibacillus massiliensis* türü deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) idi. Bu tür ile HFD ilişkisi günümüze kadar olan literatür taramalarında belirlenememiş olmasına rağmen HFD ile *Ruminococcaceae*'da azalmalar meydana geldiği Daniel ve ark. (2014) tarafından ifade edilmiştir. Ancak bizim metagenom analizlerimizde bu aileye ait 14 cins ve 22 adet tür belirlenmiş ve bunların içerisinde *Acetivibrio ethanolgignens*, *Acutalibacter muris*, *Harryflintia acetispora*, *Negativibacillus massiliensis* ve *Pseudoflavonifractor capillosus* dâhil olduğu türler deney grubunda artarken *Ruminococcus bromii* ve *Ruminococcus champanellensis* türleri kontrol grubunda artmış deney grubunda ise hiç belirlenememiştir. Bu bağlamda ele alındığında yapılan çalışmaların ve değerlendirmelerin tür düzeyinde olması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Pseudoflavonifractor cinsine ait *Pseudoflavonifractor capillosus* yine deney grubunda anlamlı ($p<0,05$) yüzdelerde artmıştı. Bu tür ile ilgili yine yeterince kaynağa ulaşılamamasına rağmen Gram negatif, kesinlikle anaerobik bir basil olduğu, 27 yaşında bir hastanın sol kolon yıkantısından izole edilerek belirlenmiştir (Ricaboni ve ark. 2016A). Lord (2019)'da bu türün disbiyozisle ilişkili olabileceğini ifade etmektedir.

Firmicutes filumuna ait bu bakterinin artışıda yine yapılacak olan yeni ve kontrollü laboratuvar çalışmalar ile diagnostik ve prognostik olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

HFD'le beslenen farelerde normal diyetle kıyaslandığında *Allobaculum* cinsi bakterilerin bolluğunda azalma meydana gelmektedir. Yine bakteroidetes seviyelerinde de HFD'le beslenenlerde artış vardır. Bu mikrobiyal farklılıklar enerji dengesinin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Ravussin ve ark. 2012). *Erysipelotrichaceae* ailesi, *Erysipelotrichales* takımına ait *Allobaculum stercoricanis*'in HFD'le beslenen grupta literatür verileriyle uyumluydu ve belirlenemedi. Ancak kontrol grubunda önemli oranda yüksekti ($p<0,01$).

Kolon; Dışkıda hem deney hem kontrol grubunda artan *Bakterioidetes* ve *Firmicutes* filumuna karşı, kolonik mikrobiyotada *bakterioidetes* daha düşük ama *Firmicutes* daha yüksek yüzdelerde idi. Benzer şekilde Nava ve ark. (2011)'de mukozada *Firmicutes* bolluğunun daha yoğun olduğunu ifade etmektedir.

Kolonik mikrobiyotada filum, sınıf ve takım düzeyinde gruplar arasında anlamlı farka rastlanmadı. Aile düzeyinde *unclassified Clostridiales*, cins seviyesinde *Bacillales* Family XI. *Incertae Sedis*, *Anaerostipes*, *Faecalimonas*, *Kineothrix*, *Marvinbryantia*, *Moryella*, *Muricomes*, *Negativibacillus*, *Flintibacter*, *Intestinimonas* ve *Allobaculum*, tür seviyesinde *Gemella*, *Staphylococcus cohnii*, *Lactobacillus intestinalis*, *Streptococcus peroris*, *Faecalimonas umbilicata*, *Kineothrix alysoides*, *[Clostridium] hylemonae*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Moryella indoligenes*, *Muricomes intestini*, *Roseburia faecis*, *Negativibacillus massiliensis*, *Ruminococcus bromii*, *[Clostridium] viride*, *Flintibacter butyricus*, *Intestinimonas butyriciproducens* ve *Allobaculum stercoricanis*'de gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardı (Çizelge 4.23).

Firmicutes filumu, *Bacilli* sınıfı ait *Gemella*, *Staphylococcus cohnii*, *Lactobacillus intestinalis*, *Streptococcus peroris* türleri deney grubundaki artışları anlamlı ($p<0,05$) idi. Yapılan bir çalışma obez farelerde *Lactobacillales* ve *Bacillales* takımı, *Staphylococcaceae* familyasında ve *Staphylococcus* cinsinde bakteri seviyelerinin arttığını ortaya koymuşlardır (Hakkak ve ark. 2017). Bu çalışma dışkı örneklerinden yapılmasına rağmen bizim mukoza örneklerimizin sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Masoodi ve ark. (2020) yine aynı sınıfa ait *Gemella morbillorumu* IBS hastalarında mukoza örneklerinde yüksek bulmuşlardır. Benzer şekilde kontrol grubunda belirlenemeyen *Gemella* türünde deney grubundaki anlamlı artış bu türün ME ve yangısal süreç içerisinde bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir. *Staphylococcus cohnii*, insan derisinin ve mukoza zarının normal florasının bir parçasıdır ve belirli durumlarda fırsatçı patojen haline gelebilir (Stefano ve ark. 2012). Çalışmamızda deney grubunda hem dışkıda hem de kolonik mikrobiyotada bu tür artmıştır. Bu artış bu türün dışkı örneklerindediagnostik olup mukozal örnekleri temsil edebileceğini ortaya koyabilir.

Farelerde kolonik mukozal yüzeyde *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* yaklaşık 2 kat kadar artmaktadır (Hill ve ark. 2009). Kolonik mikrobiyotada aile seviyesindeki değişiklikler anlamlı olmamasına rağmen (Çizelge 22), cins ve tür seviyesinde anlamlı yüzdelerde (Çizelge 24-26) *Lachnospiraceae* 7 ve *Ruminococcaceae* ait 3 tür belirlenmiştir.

Lachnospiraceae ailesine ait *Anaerostipes* mukozada kontrollerle karşılaştırıldığında iritabl bowel sendromunda azalmıştır (Lo Presti ve ark. 2019). Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda deney grubundan yüksek olan *Anaerostipes* cinsinin sağlıklı bir kolon mikrobiyom bileşeni olduğunu düşündürmektedir.

Yine Lecomte ve ark. (2015)'de normal diyetle besledikleri farelerin dışkılarında *Lactobacillus intestinalis*'in baskın tür olduğunu ve bunun kilo artışı ve yağ kütlesi ile negatif ilişkili olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışma dışkı örneklerinde yapılmasına rağmen bulgularımızla çelişmekteydi ve kolonik mikrobiyota da deney grubunda artış gösterdi. Her ne kadar probiyotik olarak kullanılan türleri olsa da yüksek *Lactobacillus* seviyesi obez bireylerde gözlenmiştir (Karlsson ve ark. 2013). Yapılan çalışmalar ve sonuçlarımızın arasındaki farklılıkların sebebi örneklerin dışkı ve kolonik mikrobiyota olması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu türün mukozada obezite ve ME ile ilişkili olup olmadığı hakkında daha fazla araştırma yapılması tavsiye edilmektedir.

Lactobacillus ve *Streptococcus* yangısal bağırsak hastalığında dışkı örneklerinde mukozal örneklerle göre daha yüksek çıkmış ve bu hastalıkla ilişkili mikrobiyom olduğu ortaya konulmuştur (Lo Presti ve ark. 2019). *Streptococcus*'un yangısal bağırsakhastalığında meydana gelen enflamasyona olası katılımı, streptokokal virülans faktörlerinin

farklı organlarda enflamatuvar yanıt ortaya çıkaran immün hücreler ile etkileşimini göstermektedir (Herrera ve ark. 2009, Rooks ve ark. 2014). Çalışmamızda dışkıda ve kolonik mikrobiyotada *Streptococcus peroris* artışı bu türün yangısal sürece ve ME'ye katkıda bulunduğunu aynı zamanda dışkıda da yangıyı gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Faecalimonas umbilicata 2017 yılında Sakamoto ve ark. tarafından insan dışkısından izole edilmiştir. *Faecalimonas umbilicata* tarafından B12 vitamini ve asetat üretimi, vitamin B12 biyosentez yolundan yoksun diğer bakterilerin büyümesi için faydalı olabilir. Diğer taraftan aneorobik bir fermantasyon ürünü olan asetatın iştah regülasyonunda, adipozite ve kilo alımında rolü tartışmalıdır. Frost ve ark. (2014) asetatın, diyetle indüklenen kilo alımına karşı koruyucu etkilerinin olduğunu, farelerde iştahın merkezi regülasyonunu sağladığı ve gıda alımını azalttığını ifade ederken, Perry ve ark. (2016) farelerde asetatın glukozla uyarılan insülin ve ghrelin sekresyonunda artış, hiperfaji ve obeziteye yol açan ters etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu çelişkili sonuçları açıklığa kavuşturmak ve metabolizmayı açıklayabilmek için daha fazla klinik deneyin yapılması gerekmektedir.

Perry ve ark. (2016) HFD'le 4 hafta boyunca besledikleri ratlarda hem kolonik içerikte hemde dokuda asetat üretiminin arttığını ortaya koymuşlardır. Ancak bu çalışma mikrobiyota çeşitliliğini ortaya koymamıştır. Bizim çalışmamızda da asetat düzeyine bakılmamasına rağmen dışkı örneklerimizde belirleyemediğimiz, asetat üreticisi bir tür olduğu belirlenen *Faecalimonas* cinsi ve *Faecalimonas umbilicata* türü deney grubunda artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi. Buradan yola çıkarak dışkıdaki mikrobiyota çeşitliliği ve mukozal çeşitlilik arasındaki fark bir kez daha ortaya konulmuştur.

Kineothrix cinsi ve *Kineothrix alysoides* türü dışkı örneklerinde olduğu gibi kolonik mikrobiyota örneklerinde de deney grubunda istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) oranlarda artmıştır. *Ruminococcus bromii* and *Kineothrix Alysoides*'in SCFA üretimine katkıda bulunan türler olup TG, TC ve LDL-L düşüşü ile ilişkilendirilmiştir (Park ve ark. 2020). Bu türlerden *Ruminococcus bromii* kontrol grubunda artmasına rağmen bütirik asit üretimi yaparak kolonik bütünlüğün sağlanmasına destek olan (Qiao ve ark. 2020) *Kineothrix alysoides* türünün hem dışkı hem de kolonik mikrobiyota için deney grubundaki artışı tam

olarak açıklanamamıştır. Ancak kolonik mikrobiyom bileşeni olabileceği ve obezite ile indüklenen disbiyozis sonucunda mukozal bütünlüğün bozulması ve dışkıda da belirlenmesi şeklinde bir yaklaşım bunu açıklayabilir.

[*Clostridium*] *hylemonae* suşları insan kolonundaki safra asidi dönüşümünde önemli rol oynamaktadır (Ridlon ve ark. 2010). Yine diğer bir safra asidi sentezine katılan bakteri türü *Parasutterella excrementihominis* olup (Ju ve ark. 2019) bu iki tür çalışmamızda HFD'le beslenen deney grubunda kolon mikrobiyotasında artmış ve istatistiki olarak anlamlı idi. Bu artışlar diyet ile ilişkili artan safra asidi üretimine bağlanmıştır.

Bağırsak mikrobiyomu bağışıklık sisteminin güçlü bir düzenleyicisidir ve hattabeyin traumasından sonra ortaya çıkan enflamatuvar değişikliklerde bile gastrointestinal mukozada inflamasyon meydana gelmektedir (Bansal ve ark. 2010). Treangen ve ark. (2018)'de travmatik beyin hasarı meydana getirdikleri farelerin bağırsak disbiyozisini ve dışkı örneklerinde *Marvinbryantia formatexigens* türünün arttığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca bu tür, fiberden yoksun beslenmeye duyarlı olup süksinat üretimi ile bağırsak inflamasyonuna katkıda bulunur (Desai ve ark. 2016, Connors ve ark. 2018). Hem dışkı hem de kolon mukoza örneklerinde miktarı deney grubunda artan *Marvinbryantia formatexigens* kolonik dokuda artan pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri ile uyumludur ve bunun için bir biyobelirteç olabilir.

Lachnospiraceae ailesinin bir diğer üyesi olan *Moryella indoligenes* HFD'le beslenen farelerin dışkısında artış göstermiş ve obezite ile ilişkilendirilmiştir (Liu ve ark. 2019). Bizde kolon mikrobiyota örneklerimizde bu türün deney grubunda anlamlı oranda yükseldiğini belirledik ve bu türün obezite ile ilişkili patolojilerde rol oynayabileceğini düşündük.

Muricomes intestini ilk olarak 2016 yılında farelerin bağırsaklarında tanımlanan bir türdür (Lagkouvardos ve ark. 2016). Bu tür hakkında yeterli kaynağa ulaşılamamış ve bizim çalışmamızda deney grubunda artmış olması ME'nin etiyoloji ve patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Her ne kadar pek çok kaynakta *Roseburia* için bütirik asit üreten ve faydalı bir mikrobiyal bileşen olarak tanımlansa da bazı kaynaklarda obezite ve iritabl bowel sendrom ile ilişkilendirilmiştir (Andoh ve ark. 2016, Harsch ve Konturek 2018, Lo Presti ve ark. 2019). Bizim çalışmamızda da hem dışkı hem de kolonik mikrobiyotada *roseburia* cinsine ait *Roseburia faecis* deney grubunda artmıştır. Bu artış yine yangısal durum ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca hem dışkıda hem de kolonik mikrobiyotada artması disbiyozisin bir göstergesi olabilir.

Firmicutes filumuna ait *Lachnospiraceae* ailesi dışında en yaygın görülen aile *Ruminococcaceae*'dir. Bu aileye ait *Negativibacillus* cinsi ve bu cins içerisindeki *Negativibacillus massiliensis* türü çalışmamızda değerlendirilmiştir (Çizelge 4.22). *Negativibacillus massiliensis* türü ilk olarak insanlarda sol kolon yıkamalarında izole edilmiş Gram negatif, hareketli olmayan çubuk şeklinde bir bakteridir (Ricaboni ve ark. 2016B). Ruuskanen ve ark. (2020)'de dışkı örneklerinde *Negativibacillus* cinsinin yağlı karaciğer indeksini öngörebileceği ancak karaciğer fonksiyonlarını yeterli oranda göstermeyeceğini ifade etmişlerdir. Bu bilgiler dışında yeterli veriye ulaşamamıza rağmen deney grubunda hem dışkıda hem de kolon mikrobiyotasında istatistiki olarak anlamlı ($p<0,01$) yüzdelerde artan bu türün obezite ve ME'nin patogenezinde bir rolünün olup olmadığı hakkında yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. *Ruminococcaceae* ailesinin diğer bir üyesi olan *Ruminococcus bromii* kontrol grubunda anlamlı oranda yüksek iken diğer türlerin tamamı deney grubunda yüksek ve anlamlı idi. *Ruminococcus bromii* insanlarda kalın bağırsakta kompleks karbonhidratların fermentasyonunda önemli bir türdür (Abell ve ark. 2008). *Eubacterium rectale* gibi *Ruminococcus bromii*'de kolonositlerin birincil yakıtı olan bütirat üreticilerindendir (Leitch ve ark. 2007). Çalışmamızda kontrol grubunda hem dışkıda hemde kolonik mikrobiyotada bu türün artması kolonik bütünlüğün ve bağırsak sağlığının bir göstergesi olabilir.

Bu ailenin son türü olan [*Clostridium*] *viride* deney grubumuzda artmış istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) idi. Bu artışın nedeni yine HFD'le beslenen sıçanların dışkı örneklerinde bu türün artışını belirleyen Duca ve ark. (2014) ile uyumludur. Ancak örneklerimizin kolonik mukozal örnekler olması ve bu tür için dışkıda anlamlı farklılıkların olmaması bu türün mukozadaki hasarın bir göstergesi olup olmayacağının tartışmasını ortaya koymaktadır.

Unclassified Clostridiales ailesine ait *Flintibacter butyricus* ve *Intestinimonas butyriciproducens* aminoasitler ve şekerlerden bütirik asit üreten türlerdir (Kläring ve ark. 2013). *Flintibacter butyricus* glutamin ve glutamat varlığında bütirat ve asetat üretebilir (Lagkouvardos ve ark. 2016). Domuz yağı içerikli HFD'le beslenen farelerin sekal içeriklerinde artan bu tür anaerobik, hareketsiz, spor oluşturmeyen Gram negatif bir bakteridir (Just ve ark. 2018). Bu benzer metabolizmaya sahip iki tür çalışmamızın deney grubunda kolon mikrobiyotasında artmış ve istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Yine Angoa-Pérez ve ark. (2020) HFD'le besledikleri farelerin sekal içeriklerinde bu türün arttığını belirlemişlerdir. Çalışmaların aksine kolonik mikrobiyota örneklerinde artmasına rağmen benzerliğin olması obezite ile ilgili patolojilerde bu türlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Firmicutes filumuna ait son anlamlı farklılık çıkan aile *Erysipelotrichaceae*'dir. Bu aileye ait *Allobaculum* cinsi *Allobaculum stercoricanis* türü dışkı örneklerinde olduğu gibi kolonik mikrobiyota örneklerinde de kontrol grubunda artmış ve deney grubunda hiç belirlenememiştir (Çizelge 4.23). *Erysipelotrichaceae* ailesinin HFD ya da batı diyetine maruziyet sonrasında bağırsaktaki yangıyı indüklediği ve hatta TNF-alfa üretimine katkıda bulunduğunu bildiren çalışmalar olmasına rağmen (Kaakoush 2015) bu aileye ait *Allobaculum stercoricanis* için mukoza tabakası güçlendirme ve mukozal bütünlüğün korunması ile ilişkili türlerden biri olduğu ve HFD'le beslenen farelerde düşük olduğu da ortaya konulmuştur (Everard ve ark. 2014). Aile düzeyinde kolon mikrobiyotasında farklılığa rastlanmazken tür düzeyinde kontrol grubunda bu türün artışı sağlıklı bir mukozayı ve mikrobiyotası gösterebilir.

6. SONUÇ

Bu çalışma, HFD ile indüklenen ME modeli oluşturulan sıçanlarda diyetin pro-enflamatuvar süreçleri başlattığı ve bağırsak mikrobiyal kompozisyonunda değişikliklere neden olduğunu ortaya koymuştur.

Obezite modeli oluşturulan deney hayvanları için kilo ve boy gibi basit antropometrik değerlendirmelerin yetersiz olduğu ve boy/kilo oranları ile yapılan Lee indeksi ve BMI değerlendirmelerinin obezitenin tanımlanmasında daha basit ve güvenilir olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca kilo kazanımları deney ve kontrol grubunda aynı olmasına rağmen TG ve HDL ölçümleri kullanılarak yapılan AI hesaplamalarının önemi de bir kez daha anlaşıldı.

Yapılan pek çok çalışmada alem düzeyinde bakteriyal mikrobiyom ele alınmasına rağmen bizim metagenomik analizlerimiz alem düzeyinde hem arkeler ve hem de bakterileri içermektedir. Günümüze kadar gastrointestinal sistem arkeleri hakkında yeterli bilgiye ulaşılamamasına rağmen birkaç çalışma bazı hastalıkların patogeneğinde önemli rollerinin olabileceğini vurgulamaktadır. Bu bağlamda ele alındığında mikrobiyota çalışmalarında arkeleri değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Diğer taraftan çalışmamızın dışkı örneklerinde deney grubundan çok yüksek ve anlamlı yüzdelerde belirlenen methanomada grup arkelerin sağlıklı bir mikrobiyotayı gösterebileceği ancak kullanılan denek türündeki farklılıkların mutlaka göz önünde bulundurulması gerektiği sonucuna varıldı.

Yukarıda detayları ile tartışılan türler için kullanılan literatür verileri arasında çok fazla benzerlik ve bazı farklılıkların varlığı ortaya konuldu. Çalışmalar arasındaki farklılıkların temel nedeni öncelikle obezite modeli ile indüklenen ME sonucunda bağırsakta meydana gelen yangısal süreçteki farklılıklardan kaynaklanabilir. Bazı bakteri türlerinin artışı sağlıklı kilo alma sürecinde ya da başlangıcı ile ilişkilendirilebilir. Ancak diğerleri bağırsakta artan pro-enflamatuvar sitokinler ve ME ile ilişkilidir. İşte bizim çalışmamızda doku düzeylerinde artışlarını belirlediğimiz IL-6 ve TNF- α düzeyleri ile birlikte değişen bağırsak mikrobiyotası ve değişen bakteriyal türler ME için birer

biyobelirteç olacak niteliktedir. Anatomik farklılıklar, diyet ve genetik farklılıkların yanı sıra hayvanlar arasında bağırsak boyunca görülen mikrobiyotal farklılıklar, Bums ve ark., (2015)'de babun mikrobiyotası bileşimi ve insan bağırsak dokusuyla ilişkili mikrobiyotanın benzerliğini ve fare dışkı örnekleri ile arasındaki farklılığı ortaya koyması ile açıklanabilir (Burns ve ark., 2015; Yuan ve ark., 2020).

Çalışmanın bir diğer çıktısı da pek çok çalışmada bahsedildiği gibi dışkı mikrobiyotasında gruplar arasındaki farkın önemli çıktığı baskın türler *Actinobacteria* (5 tür), *Bacteroidetes* (11 tür), *Firmicutes* (27 tür) ve *Proteobacteria* (1 tür) ve kolon mikrobiyomunda gruplar arasındaki farkın önemli çıktığı baskın türler ise yine *Actinobacteria* (4 tür), *Bacteroidetes* (2 tür), *Firmicutes* (17 tür) ve *Proteobacteria* (1 tür)'dir. Ayrıca dışkıda deney grubunda 11 tür hiç belirlenemezken, kontrolde 13 tür hiç belirlenememiştir. Kolonik mikrobiyotada ise deneyde 2 tür, kontrolde ise 9 tür hiç belirlenememiştir. Bu türlerden deney grubunda belirlenip kontrol grubunda sıfır bulunanlar disbiyozis ile aksine deney grubunda sıfır olup kontrol grubunda belirlenenler ise sağlıklı mikrobiyota ile ilişkilendirilebilir.

Dışkıda HFD'le indüklenen ME'ye bağlı disbiyozisin göstergesi olabilecek türlerden bazıları *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella stercora*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Robinsoniella peoriensis*, *Roseburia faecis*, *Acutalibacter muris*, *Harryflintia acetispora* ve *Pseudoflavonifractor capillosus* olarak sayılabilir. Sağlıklı mikrobiyal türlerden bazıları ise *Lactobacillus faecis*, *Ruminococcus bromii* ve *Ruminococcus champenellensis*'dir.

Bir diğer ilginç bulgu dışkıda ise *Actinobacteria* filumuna ait türlerden iki tanesi deney grubunda sıfır ve diğer ikisinde kontrolden daha az; kolonik mikrobiyomda ise belirlenen 4 türden üç tanesinin kontrolde sıfır diğer bir türün ise yine deneyden düşük olduğu bulgusu idi. Yapılan pek çok çalışma *Actinobacteria* filumu içerisinde bulunan ve probiyotik olarak kullanılan *Bifidobakteri* ve onun anti-enflamatuvar ve faydalı etkileri üzerine olmasına rağmen bizim türlerimiz *Bifidobakteri* değildi ve dışkı/kolon mikrobiyomu için farklı türlerde anlamlılık var idi. Buradan yola çıkarak kolonik mikrobiyomda *Actinobacteria* filumuna ait bazı türlerin bulunması, yangısal sürece katkısı olduğunu gösterebilir.

Çalışmalar arasındaki farklılıkların diğer bir nedeni dışkı ve mukozal örneklerin gastrointestinal sistemin hangi bölgesinden alındığı, besin içeriklerinin detaylı analizi ve beslenme süresi ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan pek çok çalışma ve tartışılan pek çokbakteri türünün dışkı örneklerine ait olması çalışmaların kısıtlılıklarındandır. Ancak bizim çalışmamızda dışkı ve kolonik mikrobiyotanın karşılaştırmalı analizleri pek çok çalışma için referans niteliğinde olacaktır.

Mukozal örneklerde ile ilgili yapılan literatür taramalar sonucunda elde edilen veriler ve çalışmamızın sonucunda özellikle deney grubunda belirlenen baskın türler göz önüne alındığında, kolon mikrobiyotası yangısal bağırsak hastalıklarına işaret eder iken dışkı mikrobiyotası daha çok beslenme ile ilişkilendirilebilecek disbiyozise işaret ettiği sonucuna varıldı. Bunun sebebinin kolon mikrobiyotasının yangısal süreci başlatan mukozal immun sistem ile ilişkili olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diğer taraftan hem dışkı hem de kolonik mikrobiyota da aynı anda artan bazı türlerin varlığı göze çarpmaktadır. Bunlar *Actinobacteria* filumunda 1 tür (*Adlercreutzia equolifaciens*), *Bacteroidetes* filumunda 1 tür (*Bacteroides sartorii*) ve *Firmicutes* filumunda ise 8 türdür (*Staphylococcus cohnii*, *Streptococcus peroris*, *Kineothrixalysoides*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Roseburia faecis*, *Negativibacillus massiliensis*, *Ruminococcus bromii*, *Allobaculum stercoricanis*). Diagnostik değeri olduğu düşünülen ve bazılarının deney bazılarının ise kontrol grubunda önemli artışları gözlenen bu türler için dışkı örneklerinin kolonik mikrobiyomu temsil ettiği söylenebilir.

Yine literatür verilerin desteklediği bulgularımız dışkıda belirlenen *Marvinbryantia formatexigens* türünün hem mukozal disbiyozisi hem de mukozada başlayan yangısal süreci temsil edebileceği, *Adlercreutzia equolifaciens*, *Streptococcus peroris* ve *Roseburia faecis* türlerinin mukozadaki yangıyı temsil edecek şekilde dışkıda da belirlendiği, son olarak ise *Ruminococcus bromii* ve *Allobaculum stercoricanis* sağlıklı ilişkili mikrobiyota türlerinden olup dışkı örneklerinde belirlenmesi ile kolonik mikrobiyotayı gösterebileceği sonucuna varılmıştır. Bu da invaziv bir yöntem olan kolonik mikrobiyota örneklerinin toplanmasından ziyade noninvaziv bir yöntem olan dışkı örneklerinden metagenom analizlerinin yapılabilirliğini desteklemektedir.

Bacteroides intestinalis (dışkı mikrobiyotası) ve *Parasutteralla excrementihominis*'in (kolonik mikrobiyota) ise safra asitleri ile ilişkili türler olduğu literatür veriler ile tekrar ortaya konulmuştur.

Yukarıda adı geçen türler ayrıca yangısal süreçler ve sağlıklı mikrobiyom için birer biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ayrıca “parmak izi” olarak ifade edilen bağırsak mikrobiyotasının uzun süreli de olsa diyet değişikliklerinden etkilendiği ve ne dışkı ne de kolonik mikrobiyotanın aslında bir “parmak izi” olduğu bilgisinin tekrar gözden geçirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bundan sonraki çalışmalar için ise diagnostik mikrobiyotanın belirlenmesi isteniyor ise taksonomik olarak tür düzeyine kadar metagenom analizlerinin yapılmasının yanı sıra hem dışkı hem de mukozal örneklerin mikrobiyotasına bakılması önerilmektedir. Ancak bir mikrobiyom türünün metabolizmasının açıklanamadığı durumda bu türün diagnostik önemini anlatmanın da yetersiz olacağı gerçeğinin mutlaka göz önünde bulundurmak gerektiği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Abbas AK, Lichtman AH (2006).** Basic immunology: Functions and disorders of the immune system. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.
2. **Abdallah Ismail N, Ragab SH, Abd Elbaky A, Shoeib AR, Alhosary Y, Fekry D.** Frequency of Firmicutes and Bacteroidetes in gut microbiota in obese and normal weight Egyptian children and adults. *Arch Med Sci*, **2011**, 7:501–507.
3. **Abell GC, Cooke CM, Bennett CN, Conlon MA, McOrist AL.** Phylotypes related to *Ruminococcus bromii* are abundant in the large bowel of humans and increase in response to a diet high in resistant starch. *FEMS Microbiol Ecol*, **2008**, 66(3):505-515.
4. **Aderem A, Ulevitch RJ.** Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, **2000**, 17;406(6797):782-7.
5. **Agganis B, Lee D and Sepe T.** Liver Enzymes: No trivial elevations, even if asymptomatic. *Cleveland Clinic J Med*, **2018**, 85:612-17.
6. **Allin KH, Tremaroli V, Caesar R. et al.** Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*, **2018**, 61, 810–820.
7. **An Y, Li Y, Wang X, Chen Z, Xu H et al.** Cordycepin reduces weight through regulating gut microbiota in high-fat diet-induced obese rats. *Lipids in Health and Disease*, **2018**, 17(1), 1-10.
8. **Anderson SR, Gilge DA, Steiber AL, Previs SF.** Diet-induced obesity alters protein synthesis: tissue-specific effects in fasted versus fed mice. *Metabolism*, **2008**, 57(3):347-354.
9. **Andoh A, Nishida, A, Takahashi K, Inatomi O, Imaeda H et al.** Comparison of the gut microbial community between obese and lean peoples using 16S gene sequencing in a Japanese population. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, **2016**, 15-152.
10. **André P, Laugerette F, Féart C.** Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans?. *Nutrients*, **2019**, 11(8):1887.
11. **Angeloco LRN, Deminice R, Leme IA, Lataro RC, Jordão AA.** Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: effects of high-fat and high-sucrose diets. *Rev. Nutr*, **2012**, 25(3):331-339.
12. **Angeloco LRN, Deminice R, Leme IA, Lataro RC, Jordão AA.** Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: effects of high-fat and high-sucrose diets. *Rev. Nutr*, **2012**, 25(3):331-339.
13. **Angoa-Pérez M, Zagorac B, Francescutti DM, Winters AD, Greenberg JM et al.** Effects of a high fat diet on gut microbiome dysbiosis in a mouse model of Gulf War Illness. *Scientific Reports*, **2020**, 10 (1), 1-12.
14. **Anitha M, Reichardt F, Tabatabavakili S, Nezami BG, Chassaing B et al.** Intestinal dysbiosis contributes to the delayed gastrointestinal transit in high-fat diet fed mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, **2016**, 2(3):328-339.
15. **Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T et al.** Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, **2011**, 473:174–180.
16. **Babidge W, Millard S, Roediger W.** Sulcides impair short chain fatty acid beta-oxidation at acyl-CoA dehydrogenase level in colonocytes: implications for ulcerative colitis. *Mol.Cell.Biochem*, **1998**, 181, 117-124.
17. **Bansal V, Costantini T, Ryu SY, Peterson C, Loomis W et al.** Stimulating the central nervous system to prevent intestinal dysfunction after traumatic brain injury. *J Trauma*, **2010**, 68:1059–64.
18. **Barlow SE and; and the Expert Committee.** Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: Summary report. *Pediatrics*, **2007**, 120, S164-S192.
19. **Basseri RJ, Basseri B, Pimentel M, Chong K, Youdim A et al.** Intestinal methane production in obese individuals is associated with a higher body mass index. *Gastroenterology & hepatology*, **2012**, 8(1), 22.
20. **Batsakis JG.** The enzymes of the hepatobiliary tract: a biochemical and clinical comparison. *Ann Clin Lab Sci*, **1974**, 4(4):255-266.
21. **Bauer PV, Hamr SC, Duca FA.** Regulation of energy balance by a gut-brain axis and involvement of the gut microbiota. *Cell Mol Life Sci*, **2016**, 73(4):737-55.

22. **Begley M, Gahan CG, Hill C.** The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev*, **2005**, 29(4):625-51.
23. **Benítez-Páez A, Gómez del Pugar EM, López-Almela I, Moya-Pérez A, Codoñer-Franch P et al.** Depletion of Blautia Species in the Microbiota of Obese Children Relates to Intestinal Inflammation and Metabolic Phenotype Worsening. *mSystem*, **2020**, 5 (2) e00857-19.
24. **Berg C, Lappas G, Wolk A, Strandhagen E, Torén K et al.** Eating patterns and portion size associated with obesity in a Swedish population. *Appetite*, **2009**, 52(1), 21-26.
25. **Bernardis LL, Patterson BD.** Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*, **1968**, 40(4):527-8.
26. **Bernardis LL.** Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's nutritive ratio in rats with hypothalamic obesity. *Experientia*, **1970**, 26, 789-90.
27. **Bilen M, Cadoret F, Daoud Z, Fournier PE, Raoult D.** "Collinsella bouchesdurhonensis" sp. nov., identified in human stool sample. *New Microbes New Infect*, **2016**, 17:39-40.
28. **Binder HJ.** Role of Colonic Short-Chain Fatty Acid Transport in Diarrhea. *Annual Review of Physiology*, **2010**, 72:1, 297-313.
29. **Blanchard C, Moreau F, Chevalier J, Ayer A, Garcon D, et al.** Sleeve Gastrectomy Alters Intestinal Permeability in Diet-Induced Obese Mice. *Obes Surg*, **2017**, 27(10):2590-2598.
30. **Blandino G, Inturri R, Lazzara F, Di Rosa M, Malaguarnera L.** Impact of gut microbiota on diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*, **2016**, 42(5), 303-315.
31. **Blasco-Baque V, Coupé B, Fabre A, Handgraaf S, Gourdy P et al.** Associations between hepatic miRNA expression, liver triacylglycerols and gut microbiota during metabolic adaptation to high-fat diet in mice. *Diabetologia*, **2017**, 60:690-700.
32. **Boden G, Shulman GI.** Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and b-cell dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation*, **2002**, 32(3) 14-23.
33. **Bomhof MR, Saha DC, Reid DT, Paul HA, Reimer RA.** Combined effects of oligofructose and Bifidobacterium animalis on gut microbiota and glycemia in obese rats. *Obesity (Silver Spring)*, **2014**, 22:763-71.
34. **Bortolin RC, Vargas AR, Gasparotto J, Chaves PR, Schnorr CE et al.** A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *Int J Obes (Lond)*, **2018**, 42(3):525-534.
35. **Boutagy NE, McMillan RP, Frisard MI, Hulver MW.** Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant?. *Biochimie*, **2016**, 124:11-20.
36. **Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, **1976**, 72:248-254.
37. **Brahe LK, Le Chatelier E, Prifti E, Pons N, Kennedy S et al.** Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity. *Nutrition & diabetes*, **2015**, 5(6), e159-e159.
38. **Brandwein M, Katz I, Katz A, Kohen R.** Beyond the gut: skin microbiome compositional changes are associated with BMI. *Human Microbiome Journal*, **2019**, 13, 2019, 100063.
39. **Brălaşu ED, Brădălan C, Cornilă M, Săvulescu I, Cojmăleală R, et al.** Normal Blood Glucose In White Wistar Rat And Its Changes Following Anesthesia. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară*, **2007**, 23:120-3.
40. **Brennan NM, Brown R, Goodfellow M, Ward AC, Beresford BT et al.** Corynebacterium mooreparkense sp. nov. and Corynebacterium casei sp. nov., isolated from the surface of a smear-ripened cheese. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2001**, 51: 843-852.
41. **Brenner M, Abadi SEM, Balouchzadeh R, Lee HF, Ko HS et al.** Estimation of insulin secretion, glucose uptake by tissues, and liver handling of glucose using a mathematical model of glucose-insulin homeostasis in lean and obese mice. *Heliyon*, **2017**, 3(6), e00310.
42. **Brook I.** Anaerobic pulmonary infections in children. *Pediatr Emerg Care*, **2004**, 20:636-40.
43. **Brook I.** Microbiology of common infections in the upper respiratory tract. *Prim Care*, **1998**, 25:633-48.
44. **Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L et al.** The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *Journal of Biological Chemistry*, **2003**, 278(13), 11312-11319.
45. **Browning JD, Baker JA, Rogers T, Davis J, Satapati S et al.** Short-term weight loss and hepatic triglyceride reduction: evidence of a metabolic advantage with dietary carbohydrate restriction. *Am J Clin Nutr*, **2011**, 93(5):1048-1052.

46. **Brugère JF, Borrel G, Gaci N, Tottey W, O'toole PW et al.** Archaeobiotics: proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease, *Gut Microbes*, **2014**, 5:5-10.
47. **Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer LC.** Highfat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*, **2007**, 15, 798–808.
48. **Caisey JD, King DJ:** Clinical chemical values for some common laboratory animals. *Clin Chem*, **1980**, 26:1877-1879.
49. **Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C et al.** Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, **2007**, 56:1761–1772.
50. **Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM et al.** Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, **2008**, 57:1470–1481.
51. **Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, Delzenne NM.** Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like peptide-1. *Obes Res*, **2005**, 13(6):1000-7.
52. **Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A.** Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes*, **2012**, 3(4):279-288.
53. **Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A et al.** Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, **2009**, 58:1091–103.
54. **Catorce M.N, Gevorkian G.** LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Curr. Neuropharmacol*, **2016**, 14:155–164.
55. **Chávez-Carbajal A, Nirmalkar K, Pérez-Lizaur A, Hernández-Quiroz F, Ramírez-Del-Alto S, et al.** Gut Microbiota and Predicted Metabolic Pathways in a Sample of Mexican Women Affected by Obesity and Obesity Plus Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci*, **2019**, 20(2):438.
56. **Cheifetz AS, Brown A, Curry M, Moss AC.** Oxford American Handbook of Gastroenterology and Hepatology. Illustrated Edition, Oxford University Press. New York, **2011**, p. 234.
57. **Chen J, Wright K, Davis JM, Jeraldo P, Marietta EV et al.** An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Med*, **2016**, 8:43.
58. **Chen L, Wang W, Zhou R, Ng SC, Li J et al.** Characteristics of fecal and mucosa-associated microbiota in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *Medicine*, **2014**, 93(8).
59. **Chen X, Li GD, Li QY, Hu CJ, Qiu SM et al.** Enteractinococcus lamae sp. nov. and Enteractinococcus viverrae sp. nov., isolated from animal faeces. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **2015**, 108(6), 1477-1483.
60. **Chen Z, Xie Y, Zhou F, Zhang B, Wu J et al.** Featured Gut Microbiomes Associated With the Progression of Chronic Hepatitis B Disease. *Frontiers in microbiology*, **2020**, 11, 383.
61. **Chiodini RJ, Dowd SE, Chamberlin WM, Galandiuk S, Davis B et al.** Microbial Population Differentials between Mucosal and Submucosal Intestinal Tissues in Advanced Crohn's Disease of the Ileum. *PLoS One*, **2015**, 10(7):e0134382.
62. **Chiu CM, Huang WC, Weng SL, Tseng HC, Liang C et al.** Systematic analysis of the association between gut flora and obesity through high-throughput sequencing and bioinformatics approaches. *Biomed Res. Int*, **2014**, 2014:906168.
63. **Chow J, Tang H, Mazmanian SK.** Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Curr Opin Immunol*, **2011**, 23: 473–80.
64. **Clavel T, Charrier C, Braune A, Wenning M, Blaut M et al.** Isolation of bacteria from the ileal mucosa of TNFdeltaARE mice and description of Enterorhabdus mucosicola gen. nov., sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2009**, 59(Pt 7):1805-1812.
65. **Clemente-Postigo M, Queipo-Ortuño MI, Murri M, Boto-Ordoñez M, Perez-Martinez P, et al.** Endotoxin increase after fat overload is related to postprandial hypertriglyceridemia in morbidly obese patients. *J Lipid Res*, **2012**, 53(5):973-8.
66. **Coker OO, Kai Wu WK, Wong SH, Sung JJ, Yu J.** Altered Gut Archaea Composition and Interaction with Bacteria are Associated with Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, **2020**, 159(4), 1459-1470.e5
67. **Cong J, Zhu H, Liu D, Li T, Zhang C et al.** A pilot study: changes of gut microbiota in post- surgery colorectal cancer patients. *Frontiers in microbiology*, **2018**, 9, 2777.
68. **Connors J, Dawe N, Van Limbergen J.** The Role of Succinate in the Regulation of Intestinal Inflammation. *Nutrients*, **2018**, 11(1):25.
69. **Cornick S, Tawiah A, Chadee K.** Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. *Tissue Barriers*, **2015**, 3(1-2):e982426.

70. **Corpet DE, Yin Y, Zhang XM, Rémésy C, Stamp D et al.** Colonic protein fermentation and promotion of colon carcinogenesis by thermolyzed casein, *Nutr Cancer*, **1995**, 23(3): 271–281.
71. **Cotta MA, Whitehead TR, Falsen E, Moore E, Lawson PA.** *Robinsoniella peoriensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a swine-manure storage pit and a human clinical source. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2009**, 59(1):150-155.
72. **Cree MG, Newcomer BR, Katsanos CS, Sheffield-Moore M, Chinkes D et al.** Intramuscular and liver triglycerides are increased in the elderly. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2004**, 89(8), 3864-3871.
73. **Crovesy L, Ostrowski M, Ferreira DMTP, Rosado EL, Soares-Mota M.** Effect of *Lactobacillus* on body weight and body fat in overweight subjects: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Obes (Lond)*, **2017**, 41(11):1607-1614.
74. **Cummings J, Pomare E, Branch W, Naylor C.** Macfarlane, G. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, **1987**, 28, 1221.
75. **Daillère R, Vétizou M, Waldschmitt N, Yamazaki T Isnard C et al.** *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* Facilitate Cyclophosphamide-Induced Therapeutic Immunomodulatory Effects. *Immunity*, **2016**, 45(4):931-943.
76. **Danda RS, Habiba NM, Rincon-Choles H, Bhandari BK, Barnes JL et al.** Kidney involvement in a nongenetic rat model of type 2 diabetes. *Kidney International*, **2005**, 68:2562–2571.
77. **Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H et al.** High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *The ISME Journal*, **2014**, 8(2), 295-308.
78. **Davis SC, Yadav JS, Barrow SD, Robertson BK.** Gut microbiome diversity influenced more by the Westernized dietary regime than the body mass index as assessed using effect size statistic. *Microbiologyopen*, **2017**, 6(4):e00476.
79. **de Castro UG, dos Santos RA, Silva ME, de Lima WG, Campagnole-Santos MJ et al.** Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids Health Dis*, **2013**, 18;12:136.
80. **De Sereday MS, Gonzalez C, Giorgini D, De Loredo L, Braguinsky J et al.** Prevalence of diabetes, obesity, hypertension and hyperlipidemia in the central area of Argentina. *Diabetes Metab*, **2004**, s. 30(4): 335-339.
81. **de Vadder F, Mithieux G.** Gut-brain signaling in energy homeostasis: the unexpected role of microbiota-derived succinate. *J Endocrinol*, **2018**, 236(2):R105-R108.
82. **Dekker Nitert M, Mousa A, Barrett HL, Naderpoor N, de Courten B.** Altered Gut Microbiota Composition Is Associated With Back Pain in Overweight and Obese Individuals. *Front. Endocrinol*, **2020**, 11, 605.
83. **Del Chierico F, Abbatini F, Russo A, Quagliariello A, Reddel S et al.** Gut Microbiota Markers in Obese Adolescent and Adult Patients: Age-Dependent Differential Patterns. *Front. Microbiol*, **2018**, 9:1210.
84. **Den Beste G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ et al.** The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*, **2013**, 54(9), 2325-2340.
85. **den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ et al.** The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*, **2013**, 54:2325–2340.
86. **Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA et al.** A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*, **2016**, 167(5), 1339-1353.
87. **Desmarchelier C, Ludwig T, Scheundel R, Rink N, Bader BL et al.** Diet-induced obesity in ad libitum-fed mice: food texture overrides the effect of macronutrient composition. *British journal of nutrition*, **2013**, 109(8), 1518-1527.
88. **Dhakal S, McCormack L, Dey M.** Association of the Gut Microbiota with Weight-Loss Response within a Retail Weight-Management Program. *Microorganisms*, **2020**, 8(8):E1246.
89. **Diane H, Melinda JM, Sylvia HD, Harry JF, Arjan N.** "A representative of the dominant human colonic Firmicutes, *Roseburia faecis* M72/1, forms a novel bacteriocin-like substance". *Anaerobe*, **2013**, 23: 5–8.
90. **Dillon SM, Lee EJ, Kotter CV, Austin GL, Gianella S et al.** Gut dendritic cell activation links an altered colonic microbiome to mucosal and systemic T-cell activation in untreated HIV-1 infection. *Mucosal Immunol*, **2016**, 9:24–37.

91. **Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan K.** Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, **2019**, 11(8):1806.
92. **Dobiášová M.** AIP--atherogenic index of plasma as a significant predictor of cardiovascular risk: from research to practice. *Vnitr Lek*, **2006**, 52(1):64-71.
93. **Dong LN, Wang JP, Liu P, Yang YF, Feng J et al.** Faecal and mucosal microbiota in patients with functional gastrointestinal disorders: Correlation with toll-like receptor 2/toll-like receptor 4 expression. *World J Gastroenterol*, **2017**, 23(36):6665-6673.
94. **Dong Y, Cheng H, Liu Y, Xue M, Liang H.** Red yeast rice ameliorates high-fat diet-induced atherosclerosis in Apoe^{-/-} mice in association with improved inflammation and altered gut microbiota composition. *Food Funct*, **2019**, 10(7):3880-3889.
95. **Dridi B, Henry M, El Khéchine A, Raoult D, Drancourt M.** High prevalence of *Methanobrevibacter smithii* and *Methanosphaera stadtmanae* detected in the human gut using an improved DNA detection protocol. *PLoS One*, **2009**, 4:e7063.
96. **Duan M, Sun X, Ma N, Liu Y, Luo T et al.** Polysaccharides from *Laminaria japonica* alleviated metabolic syndrome in BALB/c mice by normalizing the gut microbiota. *International journal of biological macromolecules*, **2019**, 121, 996-1004.
97. **Duca FA, Sakar Y, Lepage P, Devime F, Langelier B, et al.** Replication of obesity and associated signaling pathways through transfer of microbiota from obese-prone rats. *Diabetes*, **2014**, 63(5):1624-1636.
98. **Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ et al.** Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol*, **2007**, 73, 1073-1078.
99. **Duncan SH, Lopley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM et al.** Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes (Lond)*, **2008**, 32(11):1720-4.
100. **Eckburg PB, Lepp PW, Relman DA.** Archaea and their potential role in human disease. *Infect Immun*, **2003**, 71:591-6.
101. **Elahi D, Muller DC, Andersen DK, Tobin JD, Andres R.** The effect of age and glucose concentration on insulin secretion by the isolated perfused rat pancreas. *Endocrinology*, **1985**, 116, 11-16.
102. **Eme L, Spang A, Lombard J, Stairs CW, Ettema TJ.** Archaea and the origin of eukaryotes. *Nature Reviews Microbiology*, **2017**, 15(12), 711.
103. **Endo A, Irisawa T, Futagawa-Endo Y, Salminen S, Ohkuma M et al.** *Lactobacillus faecis* sp. nov., isolated from animal faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2013**, 63(12):4502-4507.
104. **Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N.** Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, **2014**, 105(2):141-150.
105. **Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C et al.** Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2013**, 110:9066-71.
106. **Everard A, Lazarevic V, Gaïa N, Johansson M, Ståhlman M, et al.** Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. *ISME J*, **2014**, 8(10):2116-2130.
107. **Faine L, Diniz YS, Almeida J, Novelli ELB, Ribas BO.** Toxicity of ad lib overfeeding. *Food and Chemical Toxicology*, **2002**, 40, 663-8.
108. **Fang W, Xue H, Chen X, Chen K, Ling W.** Supplementation with Sodium Butyrate Modulates the Composition of the Gut Microbiota and Ameliorates High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice. *J Nutr*, **2019**, 149(5):747-754.
109. **Farzi A, Fröhlich EE, Holzer P.** Gut Microbiota and the Neuroendocrine System. *Neurotherapeutics*, **2018**, 15(1):5-22.
110. **Fernández-Veledo S, Vendrell J.** Gut microbiota-derived succinate: Friend or foe in human metabolic diseases?. *Rev Endocr Metab Disord*, **2019**, 20(4):439-447.
111. **Fielding RA, Reeves AR, Jasuja R, Liu C, Barrett BB et al.** Muscle strength is increased in mice that are colonized with microbiota from high-functioning older adults. *Exp Gerontol*, **2019**, 127, 110722.
112. **Fosbol MO, Zerahn B.** Contemporary methods of body composition measurement. *Clin. Physiol. Funct. Imag*, **2015**, 35, 81-97.

113. **Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A et al.** Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*, **2008**, 48(3), 792-798.
114. **Franz CMAP, Cho G-S, Ritzmann F, Eckstein M, Huch M et al.** Quantification of *Slackia* and *Eggerthella* spp. in human feces and adhesion of representatives strains to Caco-2 cells. *Front Microbiol*, **2016**, 7.
115. **Fricker M, Skanseng B, Rudi K, Stessl B, Ehling-Schulz M.** Shift from farm to dairy tank milk microbiota revealed by a polyphasic approach is independent from geographical origin. *Int J Food Microbiol*, **2011**, 145, 24–30.
116. **Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S et al.** The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun*, **2014**, 5:3611.
117. **Fuke N, Nagata N, Suganuma H, Ota T.** Regulation of Gut Microbiota and Metabolic Endotoxemia with Dietary Factors. *Nutrients*, **2019**, 23;11(10):2277.
118. **Fukiya S, Arata M, Kawashima H, Yoshida D, Kaneko M et al.** Conversion of cholic acid and chenodeoxycholic acid into their 7-oxo derivatives by *Bacteroides intestinalis* AM-1 isolated from human feces. *FEMS microbiology letters*, **2009**, 293(2), 263-270.
119. **Gallardo-Becerra L, Cornejo-Granados F, García-López R, Valdez-Lara A, Bikel S et al.** Metatranscriptomic analysis to define the Secrebiome, and 16S rRNA profiling of the gut microbiome in obesity and metabolic syndrome of Mexican children. *Microbial Cell Factories*, **2020**, 19(1), 1-18.
120. **Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ et al.** Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*, **2009**, 58:1509–17.
121. **Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ et al.** Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*, **2009**, 58, 1509–1517.
122. **Garcia-Mantrana I, Selma-Royo M, Alcantara C, Collado MC.** Shifts on Gut Microbiota Associated to Mediterranean Diet Adherence and Specific Dietary Intakes on General Adult Population. *Front. Microbiol*, **2018**, 9, 890.
123. **Geirnaert A, Wang J, Tinck M, Steyaert A, Van den Abbeele P et al.** Interindividual differences in response to treatment with butyrate-producing *Butyricoccus pullicaecorum* 25–3T studied in an in vitro gut model. *FEMS Microbiol. Ecol*, **2015**, 91, fiv054.
124. **Gevers D, Kugathasan S, Denson, LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W et al.** The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell host & microbe*, **2014**, 15(3), 382-392.
125. **Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E.** Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J. Lipid Res*, **2009**, 50:90–97.
126. **Gibson GR, Cummings JH, McFarlane GT.** Growth and activities of sulphate-reducing bacteria in gut contents of healthy subjects and patients with ulcerative colitis. *FEMS Microbiol. Ecol*, **1991**, 86, 103-112.
127. **Gibson GR, Macfarlane GT, Cummings JH.** Occurrence of sulphate-reducing bacteria in human faeces and the relationship of dissimilatory sulphate reduction to methanogenesis in the large gut. *Journal of Applied Bacteriology*, **1988**, 65(2), 103–111.
128. **Gil-Cardoso K, Ginés I, Pinent M, Ardévol A, Blay M et al.** Effects of flavonoids on intestinal inflammation, barrier integrity and changes in gut microbiota during diet-induced obesity. *Nutr Res Rev*, **2016**, 29(2):234-248.
129. **Gil-Cardoso K, Ginés I, Pinent M, Ardévol A, Blay M et al.** The co-administration of proanthocyanidins and an obesogenic diet prevents the increase in intestinal permeability and metabolic endotoxemia derived to the diet. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **2018**, 62, 35- 42.
130. **Glymenaki M, Singh G, Brass A, Warhurst G, McBain AJ et al.** Compositional changes in the gut mucus microbiota precede the onset of colitis-induced inflammation. *Inflammatory bowel diseases*, **2017**, 23(6), 912-922.
131. **González-Quilen C, Gil-Cardoso K, Ginés I, Beltrán-Debón R, Pinent M, et al.** Grape-Seed Proanthocyanidins are Able to Reverse Intestinal Dysfunction and Metabolic Endotoxemia Induced by a Cafeteria Diet in Wistar Rats. *Nutrients*, **2019**, 29;11(5):979.
132. **Gophna U, Konikoff T, Nielsen HB.** *Oscillospira* and related bacteria - From metagenomic species to metabolic features. *Environ Microbiol*, **2017**, 19(3):835-841.
133. **Graham C, Mullen A, Whelan K.** Obesity and the gastrointestinal microbiota: a review of associations and mechanisms. *Nutr Rev*, **2015**, 73: 376-385.
134. **Grant DM.** Detoxification pathways in the liver. *J Inherit Metab Dis*, **1991**, 14(4):421-430.

135. **Griffiths E, Gupta RS.** Identification of signature proteins that are distinctive of the *Deinococcus-Thermus* phylum. *Int Microbiol*, **2007**, 10(3):201-208.
136. **Guarner F, Malagelada JR.** Gut flora in health and disease. *Lancet*, **2003**, 361, 512-519.
137. **Guo S, Nighot M, Al-Sadi R, Alhmoud T, Nighot P, Ma TY.** Lipopolysaccharide Regulation of Intestinal Tight Junction Permeability Is Mediated by TLR4 Signal Transduction Pathway Activation of FAK and MyD88. *J Immunol*, **2015**, 15;195(10):4999-5010.
138. **Gutsmann T, Razquin-Olazarán I, Kowalski I, Kaconis Y, Howe J et al.** New antiseptic peptides to protect against endotoxin-mediated shock. *Antimicrob Agents Chemother*, **2010**, 54(9):3817-24.
139. **Haas KN, Blanchard JL.** *Kineothrix alysoides*, gen. nov., sp. nov., a saccharolytic butyrate-producer within the family Lachnospiraceae. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2017**, 67(2):402-410.
140. **Hagerstand I, Norden JG.** Enzyme studies in rats with extrahepatic biliary obstruction. *Acta Pathol Microbiol Scand*, **1972**, 80, 539-547.
141. **Haghighatdoost F, Salehi-Abargouei A, Surkan PJ, Azadbakht L.** The effects of low carbohydrate diets on liver function tests in nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *J Res Med Sci*, **2016**, 29;21:53.
142. **Hailman E, Lichenstein HS, Wurfel MM, Miller DS, Johnson DA et al.** Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein accelerates the binding of LPS to CD14. *J. Exp. Med*, **1994**, 179:269-277.
143. **Hakkak R, Korourian S, Foley SL, Erickson BD.** Assessment of gut microbiota populations in lean and obese Zucker rats. *PLoS One*, **2017**, 12(7):e0181451.
144. **Hariri N, Thibault L.** High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*, **2010**, 23(2):270-99.
145. **Harsch IA, Konturek PC.** The Role of Gut Microbiota in Obesity and Type 2 and Type 1 Diabetes Mellitus: New Insights into "Old" Diseases. *Med Sci (Basel)*, **2018**, 6(2):32.
146. **Hayashi H, Shibata K, Sakamoto M, Tomita S, Benno Y.** *Prevotella copri* sp. nov. and *Prevotella stercorea* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2007**, 57(5):941-946.
147. **Hedberg ME, Moore ER, Svensson-Stadler L, Hörstedt P, Baranov V et al.** *Lachnoanaerobaculum* gen. nov., a new genus in the Lachnospiraceae: characterization of *Lachnoanaerobaculum umeaense* gen. nov., sp. nov., isolated from the human small intestine, and *Lachnoanaerobaculum orale* sp. nov., isolated from saliva, and reclassification of *Eubacterium saburreum* (Prévot 1966) Holdeman and Moore 1970 as *Lachnoanaerobaculum saburreum* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **2012**, 62(11), 2685.
148. **Herrera P, Kwon YM, Ricke SC.** Ecology and pathogenicity of gastrointestinal *Streptococcus bovis*. *Anaerobe*, **2009**, 15, 44-54.
149. **Hidaka T, Eida T, Takizawa T, Tokunaga Y, Tashiro.** Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health *Bifidobact. Microflora*, **1986**, 5, 37-50.
150. **Hijova E, Chmelarova A.** Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy*, **2007**, 108: 354-358.
151. **Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M et al.** High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology*, **2009**, 137(5), 1716-1724.
152. **Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, et al.** The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, **2014**, 11, 506-514.
153. **Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, Du Y, Kobuley D et al.** Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. *Mucosal immunology*, **2010**, 3(2), 148-158.
154. **Hoskins LC, Agustines M, McKee WB, Boulding ET, Kriaris M et al.** Mucin degradation in human colon ecosystems. Isolation and properties of fecal strains that degrade ABH blood group antigens and oligosaccharides from mucin glycoproteins. *J. Clin. Invest*, **1985**, 84: 944-953.
155. **Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM.** Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, **1995**, 95 2409-2415.
156. **Houtkooper RH, Argmann C, Houten SM, Cantó C, Jenning EH et al.** The metabolic footprint of aging in mice. *Scientific reports*, **2011**, 1, 134.
157. <https://www.aa.com.tr/tr/info/infografik/18898>
158. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

159. **Hu C, Li F, Duan Y, Yin Y, Kong X.** Dietary Supplementation With Leucine or in Combination With Arginine Decreases Body Fat Weight and Alters Gut Microbiota Composition in Finishing Pigs. *Front Microbiol*, **2019**, 10:1767.
160. **Huang C, Chen J, Wang J, Zhou H, Lu Y et al.** Dysbiosis of intestinal microbiota and decreased antimicrobial peptide level in paneth cells during hypertriglyceridemia-related acute necrotizing pancreatitis in rats. *Frontiers in microbiology*, **2017**, 8, 776.
161. **Huang H, Liu T, Rose JL, Stevens RL, Hoyt DG.** Sensitivity of mice to lipopolysaccharide is increased by a high saturated fat and cholesterol diet. *J. Inflamm*, **2007**, 4:22.
162. **Human Microbiome Project Consortium (HMPC).** Structure, function and diversity of the healthy human microbiome., *Nature*, (**2012**), 486, 207–214.
163. **Hungate RE.** The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol Rev*, **1950**, 14: 1–49.
164. **Ilhan N.** Gut microbiota and metabolism. *Int J Med Biochem*, **2018**, 1(3):115-28.
165. **Imhann F, Vila AV, Bonder MJ, Fu J, Gevers D et al.** Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease. *Gut*, **2018**, 67(1), 108-119.
166. **Ishaq SL, Moses PL, Wright ADG.** The pathology of methanogenic archaea in human gastrointestinal tract disease. Mozsik Gyula (Ed.), *The Gut Microbiome – Implications for Human Disease*, **2016**.
167. **Jia YJ, Liu J, Guo YL, Xu RX, Sun J et al.** Dyslipidemia in rat fed with high-fat diet is not associated with PCSK9-LDL-receptor pathway but ageing. *J Geriatr Cardiol*, **2013**, 10(4):361-368.
168. **Jiang SZ, Lu W, Zong XF, Ruan HY, Liu Y.** Obesity and hypertension. *Exp Ther Med*, **2016**, 12(4):2395-2399.
169. **Johnson PM, Kenny PJ.** Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat. Neurosci*, **2010**, 13, 635–641.
170. **Jousimies-Somer HR.** Update on the taxonomy and the clinical and laboratory characteristics of pigmented anaerobic gram-negative rods. *Clin Infect Dis*, **1995**, 20(2):S187–91.
171. **Ju T, Kong JY, Stothard P, Willing BP.** Defining the role of *Parasutterella*, a previously uncharacterized member of the core gut microbiota. *ISME J*, **2019**, 13(6):1520-1534.
172. **Jung TH, Park JH, Jeon WM, Han KS.** Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. *Nutr. Res. Pract*, **2015**, 9, 343–349.
173. **Just S, Mondot S, Ecker J, Wegner K, Rath E et al.** The gut microbiota drives the impact of bile acids and fat source in diet on mouse metabolism. *Microbiome*, **2018**, 6(1), 134.
174. **Kaakoush NO.** Insights into the Role of *Erysipelotrichaceae* in the Human Host. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, **2015**, 5:84.
175. **Kandler O, Konig H.** Cell wall polymers in Archaea (Archaeobacteria). *Cell Mol Life Sci*, **1998**, 54:305-8.
176. **Karaki SI, Tazoe H, Hayashi H, Kashiwabara H, Tooyama K et al.** Expression of the short-chain fatty acid receptor, GPR43, in the human colon. *Journal of molecular histology*, **2008**, 39(2), 135-142.
177. **Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F.** Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*, **2013**, 62(10):3341-3349.
178. **Kashiwagi S, Naito Y, Inoue R, Takagi T, Nakano T et al.** Mucosa-Associated Microbiota in the Gastrointestinal Tract of Healthy Japanese Subjects. *Digestion*, **2019**, 1–14.
179. **Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I.** Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *Nutrients*, **2015**, Apr14;7(4):2839-49.
180. **Ke J, An Y, Cao B, Lang J, Wu N et al.** "Orlistat-Induced Gut Microbiota Modification in Obese Mice". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2020**, 2020: 9818349.
181. **Ke X, Walker A, Haange SB, Lagkouravdos I, Liu Y et al.** Synbiotic-driven improvement of metabolic disturbances is associated with changes in the gut microbiome in diet-induced obese mice. *Molecular metabolism*, **2019**, 22, 96-109.
182. **Kim JY, Whon TW, Lim MY, Kim YB, Kim N et al.** The human gut archaeome: identification of diverse haloarchaea in Korean subjects. *Microbiome*, **2020**, 8: 114.
183. **Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh EH, Kim DH.** High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One*, **2012**, 7(10):e47713.

184. **Kläring K, Hanske L, Bui N, Charrier C, Blaut M et al.** *Intestinimonas butyriciproducens* gen. nov., sp. nov., a butyrate-producing bacterium from the mouse intestine. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **2013**, 63(12), 4606-4612.
185. **Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, Moore MC, Renner S et al.** Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, **2018**, 14(3), 140-162.
186. **Kless C, Müller VM, Schüppel VL, Lichtenegger M, Rychlik M et al.** Diet-induced obesity causes metabolic impairment independent of alterations in gut barrier integrity. *Molecular nutrition & food research*, **2015**, 59(5), 968-978.
187. **Kless C, Rink N, Rozman J, Klingenspor M.** Proximate causes for diet-induced obesity in laboratory mice: a case study. *Eur. J. Clin. Nutr*, **2017**, 71, 306-317
188. **Konikoff T, Gophna U.** Oscillospira: a central, enigmatic component of the human Gut microbiota. *Trends Microbiol*, **2016**, 24, 523-524.
189. **Koo BS, Hwang EH, Kim G, Oh H, Son Y et al.** Evaluation of fecal microbiomes associated with obesity in captive cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of veterinary science*, **2019**, 20(3).
190. **Korpela K, Flint HJ, Johnstone AM, Lappi J, Poutanen K et al.** Gut Microbiota Signatures Predict Host and Microbiota Responses to Dietary Interventions in Obese Individuals. *PLOS ONE*, **2014**, 9(3), e90702.
191. **Kreutzer C, Peters S, Schulte DM, Fangmann D, Türk K et al.** Hypothalamic inflammation in human obesity is mediated by environmental and genetic factors. *Diabetes*, **2017**, 66:2407-15.
192. **Kulp A, Kuehn MJ.** Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annu Rev Microbiol*, **2010**, 64:163-184.
193. **Kübeck R, Bonet-Ripoll C, Hoffmann C, Walker A, Müller VM et al.** Dietary fat and gut microbiota interactions determine diet-induced obesity in mice. *Molecular metabolism*, **2016**, 5(12), 1162-1174.
194. **la Fleur SE, Luijendijk MCM, van der Zwaal EM, Brans MAD, Adan RAH.** The snacking rat as model of human obesity: effects of a free-choice high-fat high-sugar diet on meal patterns. *Int. J. Obes*, **2014**, 38, 643-649
195. **Lagkouvardos I, Pukall R, Abt B, Foessel BU, Meier-Kolthoff JP et al.** The Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) provides host-specific insight into cultured diversity and functional potential of the gut microbiota. *Nat. Microbiol*, **2016**, 1, 1-15.
196. **Lam YY, Ha CW, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A et al.** Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PloS one*, **2012**, 7(3), e34233.
197. **Larsen JM.** The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology*, **2017**, 151(4):363-374.
198. **Laterza L, Rizzatti G, Gaetani E, Chiusolo P, Gasbarrini A.** The Gut Microbiota and Immune System Relationship in Human Graft-versus-Host Disease. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, **2016**, 8(1):e2016025.
199. **Laugerette F, Vors C, Gélöën A, Chauvin M, Soulage C et al.** Emulsified lipids increase endotoxemia: Possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J. Nutr. Biochem*, **2011**, 22, 53-59.
200. **Laugerette F, Vors C, Gélöën A, Chauvin MA, Soulage C, et al.** Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem*, **2011A**, 22(1):53-9.
201. **Laugerette F, Vors C, Peretti N, Michalski MC.** Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie*, **2011B**, 93:39-45.
202. **Laugerette F, Vors C, Peretti N, Michalski MC.** Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie*, **2011**, 93:39-45.
203. **Laverdure R, Mezouari A, Carson MA, Basiliko N, Gagnon J.** A role for methanogens and methane in the regulation of GLP-1. *Endocrinol Diab Metab*, **2018**, 1:e6.
204. **Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, Raipuria M, Huinao KD et al.** Changes in gutmicrobiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PloS one*, **2015**, 10(5), e0126931.
205. **Lecours PB, Marsolais D, Cormier Y, Berberi M, Haché C et al.** Increased prevalence of *Methanospaera stadtmannae* in inflammatory bowel diseases. *PLoS One*, **2014**, 9(2), e87734.
206. **Lee G-H, Rhee M-S, Chang D-H, Lee J, Kim S et al.** *Oscillibacter ruminantium* sp. nov., isolated from the rumen of Korean native cattle. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, **2013**, 63:1942-1946.

207. **Lee JY, Manna M, Kim Y, Kim J, Kim GT et al.** Comparative Analysis of Fecal Microbiota Composition Between Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis Patients. *Genes (Basel)*, **2019**, 10(10):748.
208. **Leitch EC, Walker AW, Duncan SH, Holtrop G, Flint HJ.** Selective colonization of insoluble substrates by human faecal bacteria. *Environ Microbiol*, **2007**, 9(3):667-679.
209. **Leth ML.** Glycan Utilization Strategy of the Butyrate Producing Gut Symbiont *Roseburia intestinalis*. Kgs. Lyngby, Denmark: Technical University of Denmark, **2019**, p:189.
210. **Levine GN, Keaney JF, Vita JA.** Cholesterol reduction in cardiovascular disease-clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med*, **1995**, 332:512–521.
211. **Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD et al.** Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2005**, 102(31):11070-5.
212. **Li S, Zhang HY, Hu CC, Lawrence F, Gallagher KE et al.** Assessment of diet-induced obese rats as an obesity model by comparative functional genomics. *Obesity*, **2008**, 16(4), 811-818.
213. **Li T, Gao J, Du M, Song J, Mao X.** Milk Fat Globule Membrane Attenuates High-Fat Diet- Induced Obesity by Inhibiting Adipogenesis and Increasing Uncoupling Protein 1 Expression in White Adipose Tissue of Mice. *Nutrients*, **2018**, 10(3):331.
214. **Li W, Tao H, Zhang N, Ma T, Deng K et al.** Effect of Dietary Fat on the Metabolism of Energy and Nitrogen, Serum Parameters, Rumen Fermentation, and Microbiota in twin Hu Male Lambs. *bioRxiv*, **2018**, 438929.
215. **Liang JQ, Li T, Nakatsu G, Chen YX, Yau TO et al.** A novel faecal *Lachnospirillum* marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer. *Gut*, **2020**, 69(7), 1248-1257.
216. **Lin B, Gong J, Wang Q, Cui S, Yu H et al.** In vitro assessment of the effects of dietary fibers on microbial fermentation and communities from large intestinal digesta of pigs. *Food Hydrocol*, **2011**, 25:180–188.
217. **Litang Z, Hong W, Weimin Z, Xiaohui T, Qian S.** Serum NF-κBp65, TLR4 as Biomarker for Diagnosis of Preeclampsia. *Open Med (Wars)*, **2017**, 12:399-402.
218. **Liu F, Fu Y, Wei C, Chen Y, Ma S et al.** The expression of GPR109A, NF-κB and IL-1β in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, **2014**, 44(4), 443-448.
219. **Liu S, Li F, Zhang X.** Structural modulation of gut microbiota reveals Coix seed contributes to weight loss in mice. *Appl Microbiol Biotechnol*, **2019**, 103, 5311–5321.
220. **Liu W, Wang D, Tao H, Sun X.** Is methane a new therapeutic gas? *Med Gas Res*, **2012**, 2:25.
221. **Llopis M, Cassard AM, Wrzosek L, Bosch L, Bruneau A et al.** Intestinal microbiota contributes to individual susceptibility to alcoholic liver disease. *Gut*, **2016**, 65:830–9.
222. **Lo CI, Niang EHA, Ndongo S, Raoult D, Fournier PE et al.** *Corynebacterium bouchesdurhonense* sp. nov., and *Corynebacterium provencense* sp. nov., two new species isolated from obese patients. *New Microbes New Infect*, **2019**, 31:100581.
223. **Lo Presti A, Zorzi F, Del Chierico F, Altomare A, Cocca S et al.** Fecal and mucosal microbiota profiling in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Frontiers in microbiology*, **2019**, 10, 1655.
224. **Lopez-Contreras BE, Moran-Ramos S, Villarruel-Vazquez R, Macias-Kauffer L, Villamil-Ramirez H et al.** Composition of gut microbiota in obese and normal-weight Mexican school-age children and its association with metabolic traits. *Pediatr. Obes*, **2018**, 13, 381–388.
225. **Lord RS.** Handbook of Human Nutrient Assessments, Arowhead Bioscience, First Edition, England, **2019**, p:158-160.
226. **Loubinoux J, Bronowicki JP, Pereira IA, Mougénel JL, Faou AE.** Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol*, **2002**, 40(2):107-112.
227. **Louis P, Flint HJ.** Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett*, **2009**, 294:1–8.
228. **Lowe D, John S.** Alkaline Phosphatase. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2020**, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459201/>).
229. **Lucas F, Ackroff K, Sclafani A.** Dietary fat-induced hyperphagia in rats as a function of fat type and physical form. *Physiol. Behav*, **1989**, 45, 937–946.
230. **Lucke K, Miehle S, Jacobs E, Schuppler M.** Prevalence of *Bacteroides* and *Prevotella* spp. in ulcerative colitis. *J Med Microbiol*, **2006**, 55(5):617-624.
231. **Lum G.** Significance of low serum alkaline phosphatase activity in a predominantly adult male population. *Clin Chem*, **1995**, 41(4):515-8.

232. **Lutz TA, Woods SC.** Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*, **2012**, Chapter 5:Unit5.61.
233. **Macfarlane G, Gibson G, Beatty E, Cummings J.** Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. *FEMS Microbiol. Lett*, **1992**, 101, 81–88.
234. **Macfarlane GT, Macfarlane S.** Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int*, **2012**, 95(1):50-60.
235. **Macfarlane S, Macfarlane GT.** Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc. Nutr. Soc*, **2003**, 62: 67–72.
236. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA. Brock Biology of Microorganisms (11th ed.). Global Edition, Prentice Hall, **2005**, p:556-557.
237. **Majeed M, Nagabhushanam K, Mundkur L.** National Center for Biotechnology Information. PubChem Patent Summary for US-2018360776-A1, Anti-obesity potential of garcinol. **2020**, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/US-2018360776-A1>)
238. **Malafaia AB, Nassif PA, Ribas CA, Ariede BL, Sue KN et al.** Obesity induction with high fat sucrose in rats. *Arq Bras Cir Dig*, **2013**, 26 (1):17-21.
239. **Manninen V, Elo MO, Frick MH, Haapa K, Heinonen OP et al.** Lipid alterations and decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study, **1988**, *Jama*, 260(5), 641-651.
240. **Maruo T, Sakamoto M, Ito C, Toda T, Benno Y.** *Adlercreutzia equolifaciens* gen. Nov., sp. nov., an equol-producing bacterium isolated from human faeces, and emended description of the genus *Eggerthella*. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2008**, 58(5):1221–1227.
241. **Masoodi I, Alshanteeti AS, Alyamani EJ, AlLehibi AA, Alqutub AN et al.** Microbial dysbiosis in irritable bowel syndrome: A single-center metagenomic study in Saudi Arabia. *JGH Open*, **2020**, 4(4):649-655.
242. **Mathur R, Barlow GM.** Obesity and the microbiome. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, **2015**, 9:8, 1087-1099.
243. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF et al.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, **1985**, 28(7):412-9.
244. **Moestrup KS, Chen Y, Schepeler T, Schweiger PJ, Jensen KB.** Dietary Control of Skin Lipid Composition and Microbiome. *J Invest Dermatol*, **2018**, 138(5):1225-1228.
245. **Montgomery L, Fleisher B, Stahl D.** Transfer of *Bacteroides succinogenes* (Hungate) to *Fibrobacter* gen. nov. as *Fibrobacter succinogenes* comb. nov. and Description of *Fibrobacter intestinalis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, **1988**, 38: 430–435.
246. **Moraís S, Ben David Y, Bensoussan L, Duncan SH, Koropatkin NM et al.** Enzymatic profiling of cellulosomal enzymes from the human gut bacterium, *Ruminococcus champanellensis*, reveals a fine-tuned system for cohesin-dockerin recognition. *Environ Microbio*, **2016**, 18542–556.10.1111/1462-2920.13047.
247. **Moreira AP, Texeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C.** Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr*, **2012**, 108(5):801-809.
248. **Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serino M, Luche E, Waget A et al.** Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *Int J Obes (Lond)*, **2012**, 36(11):1442-9.
249. **Morotomi M, Nagai F, Sakon H, Tanaka R.** "*Dialister succinatiphilus* sp. nov. and *Barnesiella intestinihominis* sp. nov., isolated from human faeces". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **2008**, 58 (12): 2716–2720.
250. **Morotomi M.** The family Sutterellaceae. In: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, editors. *The Prokaryotes*. Heidelberg: Springer, Berlin, **2014**, p. 1005-12.
251. **Morrison PK, Newbold CJ, Jones E, Worgan HJ, Grove-White DH et al.** The equine gastrointestinal microbiome: impacts of age and obesity. *Frontiers in Microbiology*, **2018**, 9, 3017.
252. **Moschen AR, Wieser V, Tilg H.** Dietary factors: major regulators of the gut's microbiome. *Gut and Liver*, **2012**, 6(4), 411-416.
253. **Mottawea W, Butcher J, Li J, Abujamel T, Manoogian J et al.** The mucosal–luminal interface: an ideal sample to study the mucosa-associated microbiota and the intestinal microbialbiogeography. *Pediatric research*, **2019**, 85(6), 895-903.

254. **Murakami Y, Tanabe S, Suzuki T.** High-fat Diet-induced Intestinal Hyperpermeability is Associated with Increased Bile Acids in the Large Intestine of Mice. *J Food Sci*, **2016**, 81(1):H216-22.
255. **Murata K, Ozawa K, Kawakami H, Mochizuki K, Ohkusu K.** Brachybacterium paraconglomeratum Endophthalmitis Postcataract Operation. *Case Rep Ophthalmol Med*, **2020**, 2020:1513069.
256. **Müller VM, Zietek T, Rohm F, Fiamoncini J, Lagkouvardos I et al.** Gut barrier impairment by high-fat diet in mice depends on housing conditions. *Molecular nutrition & food research*, **2016**, 60(4), 897-908.
257. **Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri JM et al.** Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes (Lond)*, **2009**, Jul;33(7):758-67.
258. **Nadiv O, Cohen O, Zick Y.** Defects of insulin's signal transduction in old rat livers. *Endocrinology*, **1992**, 130, 1515-1524.
259. **Nagy E.** Anaerobic infections: update on treatment considerations. *Drugs*, **2010**, 70:841-58.
260. **Nakajima A, Sasaki T, Itoh K, Kitahara T, Takema Y et al.** A soluble fiber diet increases Bacteroides fragilis group and IgA production in the gut. *Applied and Environmental Microbiology*, **2020**, 86(13):e00405-20.
261. **Nakamura N, Lin HC, McSweeney CS, Mackie RI, Gaskins HR.** Mechanisms of microbial hydrogen disposal in the human colon and implications for health and disease. *Annual Review of Food Science and Technology*, **2010**, 1, 363-395.
262. **Nava GM, Friedrichsen HJ, Stappenbeck TS.** Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME J*, **2011**, 5(4):627-638.
263. **NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC).** Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*, **2017**, 16;390(10113):2627-2642.
264. **Netto Candido TL, Bressan J, Alfenas R de CG.** Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. *Nutr. Hosp*, **2018**, 35:1432-1440.
265. **Neumann AP, McCormick CA, Suen G.** Fibrobacter communities in the gastrointestinal tracts of diverse hindgut-fermenting herbivores are distinct from those of the rumen. *Environ Microbiol*, **2017**, 19(9):3768-3783.
266. **Neves AL, Coelho J, Couto L, Leite-Moreira A, Roncon-Albuquerque R Jr.** Metabolic endotoxemia: a molecular link between obesity and cardiovascular risk. *J Mol Endocrinol*, **2013**, 51(2):R51-R64.
267. **Nilsson C, Raun K, Yan FF, Larsen MO, Tang-Christensen M.** Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin*, **2012**, 33(2):173-81.
268. **Nishikawa S, Yasoshima A, Doi K, Nakayama H, Uetsuka K.** Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet-induced obesity in C57BL/6J and BALB/cA mice. *Exp. Animals*, **2007**, 56, 263-272
269. **Nkamga VD, Henrissat B, Drancourt, M.** Archaea: Essential inhabitants of the human digestive microbiota. *Human Microbiome Journal*, **2017**, 3, 1-8.
270. **Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG et al.** Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim*. 2007; 41(1):111-9.
271. **Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG et al.** Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim*, **2007**, 41(1):111-9.
272. **Nwagha UI, Ikekpeazu EJ, Ejezie FE, Neboh EE, Maduka IC.** Atherogenic index of plasma as useful predictor of cardiovascular risk among postmenopausal women in Enugu, Nigeria. *Afr Health Sci*, **2010**, 10(3):248-52.
273. **Ochoa-Repáraz J, Kasper LH.** The Second Brain: Is the Gut Microbiota a Link Between Obesity and Central Nervous System Disorders?. *Curr Obes Rep*, **2016**, 5(1):51-64.
274. **Oxley AP, Lanfranchi MP, Würdemann D, Ott S, Schreiber S et al.** Halophilic archaea in the human intestinal mucosa. *Environmental microbiology*, **2010**, 12(9), 2398-2410.
275. **Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu AN.** Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev*, **1996**, 48:69-112.
276. **Pagana K, Pagana T.** Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests. St. Louis: Mosby, Inc., Fifth Edition, Canada, **2017**, p:45-49.

277. **Pan H, Guo R, Ju Y, Wang Q, Zhu J et al.** A single bacterium restores the microbiome dysbiosis to protect bones from destruction in a rat model of rheumatoid arthritis. *Microbiome*, **2019**, 7(1), 107.
278. **Pan XD, Chen FQ, Wu TX, Tang HG, Zhao ZY.** Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *J Zhejiang Univ Sci B*, **2009**, 10(4):258-63.
279. **Park YE, Kim MS, Shim KW, Kim YI, Chu J et al.** Effects of *Lactobacillus plantarum* Q180 on Postprandial Lipid Levels and Intestinal Environment: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Parallel Trial. *Nutrients*, **2020**, 12(1), 255.
280. **Parthasarathy G, Chen J, Chen X, Chia N, O'Connor HM, et al.** Relationship between microbiota of the colonic mucosa vs feces and symptoms, colonic transit, and methane production in female patients with chronic constipation. *Gastroenterology*, **2016**, 150(2), 367-379.
281. **Peng L, Li ZR, Green RS, Holzman IR, Lin J.** Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr*, **2009**, 139(9):1619-1625.
282. **Perry RJ, Peng L, Barry NA, Cline GW, Zhang D et al.** Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature*, **2016**, 534(7606), 213-217.
283. **Peters BA, Shapiro JA, Church TR, Miller G, Trinh-Shevrin C et al.** A taxonomic signature of obesity in a large study of American adults. *Scientific reports*, **2018**, 8(1), 1-13.
284. **Petzoldt D, Breves G, Rautenschlein S, Taras D.** *Harryflintia acetispora* gen. nov., sp. nov., isolated from chicken caecum. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2016**, 66(10):4099-4104.
285. **Pfeiffer N, Desmarchelier C, Blaut M, Daniel H, Haller D, Clavel T.** *Acetatifactor muris* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium isolated from the intestine of an obese mouse. *Archives of Microbiology*, **2012**, 194(11):901-907.
286. **Pimentel M, Gunsalus RP, Rao SS, Zhang H.** Methanogens in human health and disease. *Am J Gastroenterol Suppl*, **2012**, 1:28-33.
287. **Pires AL, Albuquerque L, Tiago I, Nobre MF, Empadinhas N et al.** *Meiothermus timidus* sp. nov., a new slightly thermophilic yellow-pigmented species. *FEMS Microbiology Letters*, **2005**, 245(1): 39-45.
288. **Pirlich M, Norman K, Lochs H, Bauditz J.** Role of intestinal function in cachexia. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, **2006**, 9: 603-606.
289. **Pitcher D, Soto A, Soriano F, Valero-Guillén P.** Classification of coryneform bacteria associated with human urinary tract infection (group D2) as *Corynebacterium urealyticum* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, **1992**, 42(1):178-181.
290. **Pu S, Khazanehei H, Jones PJ and Khafipour E.** Interactions between Obesity Status and Dietary Intake of Monounsaturated and Polyunsaturated Oils on Human Gut Microbiome Profiles in the Canola Oil Multicenter Intervention Trial (COMIT). *Front Microbiol*, **2016**, 7:1612.
291. **Qiao S, Bao L, Wang K, Sun S, Liao M et al.** Activation of a Specific Gut Bacteroides-Folate- Liver Axis Benefits for the Alleviation of Nonalcoholic Hepatic Steatosis. *Cell Reports*, **2020**, 32(6), 108005.
292. **Qin P, Zou Y, Dai Y, Luo G, Zhang X et al.** Characterization a Novel Butyric Acid-Producing Bacterium *Collinsella aerofaciens* Subsp. *Shenzhenensis* Subsp. Nov. *Microorganisms*, **2019**, 7, 78.
293. **Rainey F.** Family VIII. Ruminococcaceae fam. nov. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, vol. 3., Dordrecht, Heidelberg, London and New York: Springer. **2009**, p:1016-1043
294. **Rajilic-Stojanovic M, Smidt H, de Vos WM.** Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environ Microbiol*, **2007**, 9:2125-36.
295. **Ramezani A, Nolin TD, Barrows IR, Serrano MG, Buck GA et al.** Gut colonization with methanogenic archaea lowers plasma trimethylamine N-oxide concentrations in apolipoprotein e^{-/-} mice. *Scientific reports*, **2018**, 8(1), 1-11.
296. **Rao SS, Camilleri M, Hasler WL, Maurer AH, Parkman HP et al.** Evaluation of gastrointestinal transit in clinical practice: position paper of the American and European Neurogastroenterology and Motility Societies. *Neurogastroenterol Motil*, **2011**, 23(1):8.
297. **Rao SSC, Kavelock R, Beaty J, Ackerson K, Stumbo, P.** Effects of fat and carbohydrate meals on colonic motor response. *Gut*, **2000**, 46(2), 205-211.
298. **Ravussin Y, Koren O, Spor A, LeDuc C, Gutman R et al.** Responses of gut microbiota to diet composition and weight loss in lean and obese mice. *Obesity*, **2012**, 20(4), 738-747.

299. **Reichardt F, Chassaing B, Nezami BG, Li G, Tabatabavakili S et al.** Western diet induces colonic nitroergic myenteric neuropathy and dysmotility in mice via saturated fatty acid- and lipopolysaccharide-induced TLR4 signalling. *J Physiol*, **2017**, 1831–1846.
300. **Ren D, Li L, Schwabacher AW, Young JW, Beitz DC.** Mechanism of cholesterol reduction to coprostanol by *Eubacterium coprostanoligenes* ATCC 51222, *Steroids*, **1996**, 61 (1), 33-40.
301. **Reuter TY.** Diet-induced models for obesity and type 2 diabetes, *Drug Discovery Today. Disease Models*, **2007**, 4(1); 3-8.
302. **Rey FE, Faith JJ, Bain J, Muehlbauer MJ, Stevens RD et al.** Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. *Journal of biological chemistry*, **2010**, 285(29), 22082- 22090.
303. **Ricaboni D, Mailhe M, Benezech A, Andrieu C, Fournier PE et al.** 'Pseudoflavonifractor phocaensis' gen. nov., sp. nov., isolated from human left colon. *New Microbes New Infect*, **2016A**, 17:15-17.
304. **Ricaboni D, Mailhe M, Vitton V, Andrieu C, Fournier PE et al.** "Negativibacillus massiliensis" gen. nov., sp. nov., isolated from human left colon. *New Microbes New Infect*, **2016B**, 17:36-38.
305. **Ridler C.** Acetate promotes obesity via a gut–brain– β -cell axis. *Nat Rev Endocrinol*, **2016**, 12, 436.
306. **Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB.** Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res*, **2006**, 47:241–59.
307. **Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB.** Isolation and characterization of a bile acid inducible 7 α -dehydroxylating operon in *Clostridium hylemonae* TN271. *Anaerobe*, **2010**, 16(2):137-146.
308. **Ringel Y, Maharshak N, Ringel-Kulka T, Wolber EA, Sartor RB et al.** High throughput sequencing reveals distinct microbial populations within the mucosal and luminal niches in healthy individuals. *Gut Microbes*, **2015**, 6(3):173-81.
309. **Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD et al.** What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, **2019**, 7(1), 14.
310. **Rooks MG, Veiga P, Wardwell-Scott LH, Tickle T, Segata N et al.** Gut microbiome composition and function in experimental colitis during active disease and treatment-induced remission. *ISME J*, **2014**, 8, 1403–1417.
311. **Rothwell NJ, Stock MJ.** Regulation of energy balance. *Annual Review of Nutrition*, **1981**, 1, 235–56.
312. **Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J et al.** Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr*, **2018**, 57(1):1-24.
313. **Ruuskanen MO, Åberg F, Männistö V, Havulinna AS, Méric G et al.** Links between gut microbiome composition and fatty liver disease in a large population sample. *medRxiv*, **2020**, 1-45.
314. **Sakaguchi E, Sakoda C, Toramaru Y.** Caecal fermentation and energy accumulation in the rat fed on indigestible oligosaccharides. *Br J Nutr*, **1998**, 80(5):469-476.
315. **Sakamoto M, Iino T, Ohkuma M.** *Faecalimonas umbilicata* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces, and reclassification of *Eubacterium contortum*, *Eubacterium fissicatena* and *Clostridium oroticum* as *Faecalicatena contorta* gen. nov., comb. nov., *Faecalicatena fissicatena* comb. nov. and *Faecalicatena orotica* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2017**, 67(5):1219-1227.
316. **Sakamoto M, Ikeyama N, Yuki M, Ohkuma M.** Draft Genome Sequence of *Faecalimonas umbilicata* JCM 30896T, an Acetate-Producing Bacterium Isolated from Human Feces. *Microbiol Resour Announc*, **2018**, 7(9):e01091-18.
317. **Sakamoto M, Takagaki A, Matsumoto K, Kato Y, Goto K et al.** *Butyricimonas synergistica* gen. nov., sp. nov. and *Butyricimonas virosa* sp. nov., butyric acid-producing bacteria in the family 'Porphyromonadaceae' isolated from rat faeces. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, **2009**, 59(7):1748-53.
318. **Salonen A, Lahti L, Salojärvi J, Holtrop G, Korpela K et al.** Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *The ISME journal*, **2014**, 8(11), 2218-2230.
319. **Salonen A, Lahti L, Salojärvi J, Holtrop G, Korpela K et al.** Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *ISME J*, **2014**, 8:2218–2230.
320. **Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ et al.** Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity*, **2011**, 19(6), 1109-1117.
321. **Savage DC.** Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol*, **1977**, 31:107– 133.

322. **Schenk S, Saberi M, Olefsky JM.** Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, **2008**, 118. 2992–3002.
323. **Schroeder BO, Birchenough GMH, Ståhlman M, Arike L, Johansson MEV et al.** Bifidobacteria or Fiber Protects against Diet-Induced Microbiota-Mediated Colonic Mucus Deterioration. *Cell Host Microbe*, **2018**, 23(1):27–40.e7.
324. **Schwiertz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA et al.** Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)*, **2010**, 18: 190–195.
325. **Sclafani A.** Carbohydrate-induced hyperphagia and obesity in the rat: effects of saccharide type, form, and taste. *Neurosci. Biobehav. Rev*, **1987**, 11, 155–162.
326. **Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB.** Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, **2010**, 90(3):859–904.
327. **Serena C, Ceperuelo-Mallafre V, Keiran N, Queipo-Ortuño MI, Bernal R et al.** Elevated circulating levels of succinate in human obesity are linked to specific gut microbiota. *The ISME journal*, **2018**, 12(7), 1642–1657.
328. **Serena C, Ceperuelo-Mallafre V, Keiran N. et al.** Elevated circulating levels of succinate in human obesity are linked to specific gut microbiota. *ISME J*, **2018**, 12, 1642–1657.
329. **Sergeev IN, Aljutaily T, Walton G, Huarte E.** Effects of Synbiotic Supplement on Human Gut Microbiota, Body Composition and Weight Loss in Obesity. *Nutrients*, **2020**, 12, 222.
330. **Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S.** AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*, **1998**, 93:44–8.
331. **Shin NR, Whon TW, Bae JW.** Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol*, **2015**, 33:496–503.
332. **Shoaie S, Karlsson F, Mardinoglu A, Nookaew I, Bordel S et al.** Understanding the interactions between bacteria in the human gut through metabolic modeling. *Sci Rep*, **2013**, 3:2532.
333. **Si J, You HJ, Yu J, Sung J, Ko G.** Prevotella as a hub for vaginal microbiota under the influence of host genetics and their association with obesity. *Cell Host Microbe*, **2017**, 21:97–105.
334. **Sjöström L, Rissanen A, Andersen T, Boldrin M, Golay A, et al.** “Randomised placebo- controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. European Multicentre Orlistat Study Group,” *The Lancet*, **1998**, 352(9123), 167–172.
335. **Song MJ, Kim KH, Yoon JM, Kim JB.** Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, **2006**, 4;346(3):739–45.
336. **Song YL, Liu CX, McTeague M, Finegold SM.** “*Bacteroides nordii*” sp. nov. and “*Bacteroides salyersae*” sp. nov. isolated from clinical specimens of human intestinal origin. *J. Clin. Microbiol*, **2004**, 42:5565–5570.
337. **Sookoian S, Salatino A, Castaño GO, Landal MS, Fijalkowky C, et al.** Intrahepatic bacterial metataxonomic signature in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*, **2020**, 69:1483–1491.
338. **Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH et al.** Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology*, **2011**, 140:976–986.
339. **Stefano M, Del Rosso A, Saldutto P, Paradiso Galatioto G, Vicentini C.** Intrascrotal Abscess, *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Urol*, **2012**, 2012:313694.
340. **Stephens DN.** Does the Lee obesity index measure general obesity? *Physiol Behav*, **1980**, 25(2):313–5.
341. **Stoll LL, Denning GM, Weintraub NL.** Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, **2004**, 24:2227–2236.
342. **Suganami T, Tanimoto-Koyama K, Nishida J, Itoh M, Yuan X et al.** Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2007**, 1:84–91.
343. **Sundin J, Rangel I, Fuentes S, Heikamp-de Jong I, Hultgren-Hörnquist E et al.** Altered faecal and mucosal microbial composition in post-infectious irritable bowel syndrome patients correlates with mucosal lymphocyte phenotypes and psychological distress. *Aliment Pharmacol Ther*, **2015**, 41(4):342–51.
344. **Sutoyo DA, Atmaka DR, Sidabutar LMGB.** Dietary Factors Affecting Firmicutes And Bacteroidetes Ratio In Solving Obesity Problem: A Literature Review. *Media Gizi Indonesia*, **2020**, 15(2): 94–109.

345. **Suzuki T, Hara H.** Dietary fat and bile juice, but not obesity, are responsible for the increase in small intestinal permeability induced through the suppression of tight junction protein expression in LETO and OLETF rats. *Nutr Metab*, **2010**, 12, 7–19.
346. **Taggart AK, Kero J, Gan X, Cai TQ, Cheng K et al.** (D)- β -hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *Journal of Biological Chemistry*, **2005**, 280(29), 26649-26652.
347. **Tamai K, Akashi Y, Yoshimoto Y, Yaguchi Y, Takeuchi Y et al.** First case of a bloodstream infection caused by the genus *Brachybacterium*. *Journal of Infection and Chemotherapy*, **2018**, 24(12), 998-1003.
348. **Tamanai-Shacoori Z, Smida I, Bousarghin L, Loreal O, Meuric V et al.** Roseburia spp.: a marker of health?. *Future microbiology*, **2017**, 12(2), 157-170.
349. **Tazoe H, Otomo Y, Karaki SI, Kato I, Fukami Y et al.** Expression of short-chain fatty acid receptor GPR41 in the human colon. *Biomedical Research*, **2009**, 30(3), 149-156.
350. **Tazoe H. et al.** Expression of short-chain fatty acid receptor GPR41 in the human colon. *Biomed. Res*, **2009**, 30, 149–156.
351. **Thangaraju M, Cresci GA, Liu K, Ananth S, Gnanaprakasam JP et al.** GPR109A is a G- protein–coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer research*, **2009**, 69(7), 2826-2832.
352. **Thursby E, Juge N.** Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*, **2017**, 16;474(11):1823-1836.
353. **Timmers S, De Vogel-van Den Bosch J, De Wit N, Schaart G, Van Beurden D, et al.** Differential effects of saturated versus unsaturated dietary fatty acids on weight gain and myocellular lipid profiles in mice. *Nutrition & diabetes*, **2011**, 1(7), e11-e11.
354. **Togo AH, Diop A, Dubourg G, Nguyen TT, Andrieu C et al.** *Butyricimonas phoceensis* sp. nov., a new anaerobic species isolated from the human gut microbiota of a French morbidly obese patient. *New microbes and new infections*, **2016**, 14, 38-48.
355. **Topping DL, Clifton PM.** Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev*, **2001**, 81(3):1031-64.
356. **Treangen TJ, Wagner J, Burns MP and Villapol S.** Traumatic Brain Injury in Mice Induces Acute Bacterial Dysbiosis Within the Fecal Microbiome. *Front. Immunol*, **2018**, 9:2757.
357. **Tuovinen E, Keto J, Nikkila J, Matto J, Lahteenmaki K.** Cytokine response of human mononuclear cells induced by intestinal *Clostridium* species. *Anaerobe*, **2013**, 19:70–76
358. **Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A et al.** A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, **2009B**, 457:480–484.
359. **Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R et al.** The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science translational medicine*, **2009**, 1(6), 6ra14.
360. **Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED).** Obezite, Lipid Metabolizması, Hipertansiyon Çalışma Grubu. Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2019. 8. Baskı, Tıpkı Basım, Ankara, 2018, s:11-19.
361. **Ulger Toprak N, Bozan T, Birkan Y, Isbir S, Soyletir G.** *Butyricimonas virosa*: the first clinical case of bacteraemia. *New Microbes New Infect*, **2015**, 4:7-8.
362. **van Bergenhenegouwen J, Kraneveld AD, Rutten L, Garssen J, Vos AP, Hartog A.** Lipoproteins attenuate TLR2 and TLR4 activation by bacteria and bacterial ligands with differences in affinity and kinetics. *BMC Immunol*, **2016**, 17(1):42.
363. **Van Der Heijden RA, Bijzet J, Meijers WC, Yakala GK, Kleemann R et al.** Obesity-induced chronic inflammation in high fat diet challenged C57BL/6J mice is associated with acceleration of age-dependent renal amyloidosis. *Scientific reports*, **2015**, 5, 16474.
364. **Vargas JE, Andrés S, López-Ferreras L, Snelling TJ, Yáñez-Ruiz DR et al.** Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Scientific Reports*, **2020**, 10(1), 1-9.
365. **Villareal DT, Apovian CM, Kushner RF, Klein S.** Obesity in older adults: technical review and position statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *Am. J. Clin. Nutr*, **2005**, 82, 923–934.
366. **Vuik FER, Dicksved J, Lam SY, Fuhler GM, van der Laan LJW et al.** Composition of the mucosa-associated microbiota along the entire gastrointestinal tract of human individuals. *United European gastroenterology journal*, **2019**, 7(7), 897-907.

367. **Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G et al.** Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J*, **2011**, 5220–230.
368. **Walker HK, Hall WD, Hurst JW.** Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations, Chapter 193, 3rd edition, Boston: Butterworths, Boston, **1990**, PMID: 21250045.
369. **Wang L, Zeng B, Zhang X, Liao Z, Gu L, et al.** The effect of green tea polyphenols on gut microbial diversity and fat deposition in C57BL/6J HFA mice. *Food & Function*, **2016**, 7(12), 4956–4966.
370. **Wang TY, Zhang XQ, Chen AL, Zhang J, Lv BH et al.** A comparative study of microbial community and functions of type 2 diabetes mellitus patients with obesity and healthy people. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2020A**, 104(16), 7143–7153.
371. **Wang W, Zhong M, Yu T, Chen L, Shi L et al.** Polysaccharide extracted from WuGuChong reduces high-fat diet-induced obesity in mice by regulating the composition of intestinal microbiota. *Nutrition & metabolism*, **2020B**, 17, 1–12.
372. **Wang Z, Yang Y, Xiang X, Zhu Y, Men J et al.** Estimation of the normal range of blood glucose in rats. *Wei Sheng Yan Jiu*, **2010**, 39(2):133–142.
373. **Warden CH, Fisler JS.** Comparisons of diets used in animal models of high fat feeding. *Cell Metab*, **2008**, 7: 277–280.
374. **Watanabe Y, Nagai F, Morotomi M, Sakon H, Tanaka R.** *Bacteroides clarus* sp. nov., *Bacteroides fluxus* sp. nov. and *Bacteroides oleiciplenus* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2010**, 60(8):1864–1869.
375. **Weber M, Geißert J, Kruse M, Lipski A.** Comparative analysis of bacterial community composition in bulk tank raw milk by culture-dependent and culture-independent methods using the viability dye propidium monoazide. *J Dairy Sci*, **2014**, 97: 6761–6776.
376. **West JB.** 'Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice'. VVilliams and VVilkins, Subsequent Edition, India, **1991**, p:675 - 692.
377. **Wiesner P, Choi SH, Almazan F, Benner C, Huang W, et al.** Low doses of lipopolysaccharide and minimally oxidized low-density lipoprotein cooperatively activate macrophages via nuclear factor kappa B and activator protein-1: possible mechanism for acceleration of atherosclerosis by subclinical endotoxemia. *Circ Res*, **2010**, 9:107(1):56–65.
378. **Windey K, De Preter V, Verbeke K.** Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol. Nutr. Food Res*, **2012**, 56, 184–196.
379. **Winzell MS, Ahren B.** The high-fat diet-fed mouse. *Diabetes*, **2004**, 53, 215–219.
380. **Xie G, Wang X, Huang F, Zhao A, Chen W et al.** Dysregulated hepatic bile acids collaboratively promote liver carcinogenesis. *Int J Cancer*, **2016**, 139:1764–75.
381. **Yang BG, Hur KY, Lee MS.** Alterations in Gut Microbiota and Immunity by Dietary Fat. *Yonsei Med J*. **2017**, 58(6):1083–1091.
382. **Yang C, Xu Z, Deng Q, Huang Q, Wang X et al.** Beneficial effects of flaxseed polysaccharides on metabolic syndrome via gut microbiota in high-fat diet fed mice. *Food Res Int*, **2020**, 131:108994.
383. **Yang JY, Lee YS, Kim Y, Lee SH, Ryu S et al.** Gut commensal *Bacteroides acidifaciens* prevents obesity and improves insulin sensitivity in mice. *Mucosal immunology*, **2017**, 10(1), 104–116.
384. **Yang M, Liu Y, Xie H, Wen Z, Zhang Y et al.** Gut microbiota composition and structure of the Ob/Ob and Db/Db mice. *International journal of endocrinology*, **2019**, 2019:1394097.
385. **Yao Z, Mates JM, Cheplowitz AM, Hammer LP, Maiseyeu A, et al.** Blood-Borne lipopolysaccharide is rapidly eliminated by liver sinusoidal endothelial cells via high-density lipoprotein. *J. Immunol*, **2016**, 197, 2390–2399.
386. **Yun Y, Kim HN, Kim SE, Heo SG, Chang Y et al.** Comparative analysis of gut microbiota associated with body mass index in a large Korean cohort. *BMC microbiology*, **2017**, 17(1), 151.
387. **Zeng H, Ishaq SL, Zhao FQ, Wright AG.** Colonic inflammation accompanies an increase of β -catenin signaling and Lachnospiraceae/Streptococcaceae bacteria in the hind gut of high-fat diet-fed mice. *J Nutr Biochem*, **2016**, 35:30–36.
388. **Zhang C, Zhang M, Pang X, Zhao Y, Wang L et al.** Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. *ISME J*, **2012**, 6:1848–57.
389. **Zhao W, Kang L, Cui F.** Isolation of Rice Stripe Virus Preparation from Viruliferous Small Brown Planthoppers and Mechanic Inoculation on Rice. *Bio-protocol*, **2017**, 7(21): e2597.
390. **Zhou SL, Gordon RE, Bradbury M, Stump D, Kiang CL et al.** Ethanol up-regulates fatty acid uptake and plasma membrane expression and export of mitochondrial aspartate aminotransferase in HepG2 cells. *Hepatology*, **1998**, 27:1064–74.

391. **Zhou X, Meile L, Kreuzer M, Zeitz JO.** The effect of saturated fatty acids on methanogenesis and cell viability of *Methanobrevibacter ruminantium*. *Archaea*, **2013**, 2013:106916.
392. **Zhou XL, Yan B, Xiao Y, Zhou Y, Liu T.** Tartary buckwheat protein prevented dyslipidemia in high-fat diet-fed mice associated with gut microbiota changes. *Food Chem. Toxicol*, **2018**, 119, 296–301.
393. **Zhu X, Yu L, Zhou H, Ma Q, Zhou X et al.** Atherogenic index of plasma is a novel and better biomarker associated with obesity: a population-based cross-sectional study in China. *Lipids Health Dis*, **2018**, 17(1):37.
394. **Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans AD et al.** Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Applied and environmental microbiology*, **2002**, 68(7), 3401-3407.
395. **Zuo T, Zhang F, Lui GC, Yeoh YK, L, AY et al.** Alterations in Gut Microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization. *Gastroenterology*, **2020**, S0016-5085(20)34701-6.



ÖZGEÇMİŞ

1997 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 2002 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda (Vet) doktora eğitime başladı. 2004 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandı. 2008 yılında doktora eğitimini tamamladı ve 2010 yılındayine Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na Yardımcı Doçent olarak atandı. 2014 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı'nda (Tıp) ikinci kez doktora eğitime başladı. 2017 yılında Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalından Doçent'lik sözlü sınavına girerek Veterinerlik İç Hastalıkları Bilim Alanında Üniversite Doçenti ünvanını aldı. Halen aynı üniversitede Doçent olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki kız çocuğu annesidir.