



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ
YAŞLI RATLARDA BAĞIRSAK
GEÇİRGENLİĞİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Adnan MENEKŞE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Ağustos-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ
YAŞLI RATLARDA BAĞIRSAK
GEÇİRGENLİĞİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Adnan MENEKŞE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI

Ağustos-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Adnan MENEKŞE tarafından hazırlanan “Genç kan plazma uygulamasının yaşlı ratlarda bağırsak geçirgenliği üzerindeki etkilerinin araştırılması” adlı seminer çalışması 12/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Güvenliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ALLAHVERDİ
Muş Alparslan Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji

.....

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI
Muş Alparslan Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda İşleme

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hikmet Taner TEKER
Ankara Medipol Üniversitesi,
Tıbbi Biyoloji Genetik

.....

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı
ile onaylanmıştır.

.....
Dç. Dr. Sedat BOZARI

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Adnan MENEKŞE

Tarih: 07/07/2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ YAŞLI RATLARDA BAĞIRSAK GEÇİRGENLİĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Adnan MENEKŞE

**Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Güvenliği Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Taha CEYLANI

Yaşlanma, bağırsak geçirgenliğinde bozulmalara yol açmakta ve bu durum çeşitli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Bu nedenle, yaşlanma sürecinin bu etkilerini hafifletebilecek veya tersine çevirebilecek potansiyel stratejileri keşfetmek, halk sağlığı için önemlidir. Bu çalışma, genç plazma transfüzyonunun yaşlı ratlarda bağırsak bariyeri fonksiyonları ve biyomoleküler yapı üzerindeki etkilerini araştırmaktadır. Çalışmada, 5 haftalık erkek Sprague-Dawley ratlardan alınan genç plazma, 24 aylık erkek Sprague-Dawley ratlara 30 gün boyunca transfüze edildi. Transfüzyon sonrası, ratlardan alınan ince bağırsak dokuları incelendi. Öncelikle, bu dokulardaki okludin ve zona-okludin seviyeleri, bağırsak bariyerinin sıkı bağlantı proteinleri, Western Blot analizi kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar, okludin ve zona-okludin protein seviyelerinde anlamlı derecede artış olduğunu gösterdi. Daha sonra, ince bağırsak dokularının biyomoleküler yapıları, Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi kullanılarak incelendi. FTIR spektroskopisi, belirli molekül gruplarının özgül infrared emilim bandlarını belirlemek için kullanılır, böylece hedef dokudaki lipid, protein ve nükleik asit profillerini ortaya çıkarır. Spektroskopi analizleri, genç plazma transfüzyonu sonrası protein fosforilasyon ve karbonilasyon indekslerinde bir azalma ve amid proteinde bir artış gösterdi. Bu değişiklikler, genç plazma transfüzyonunun yaşlanma süreci tarafından neden olunan biyomoleküler yapı bozukluklarını yeniden şekillendirebileceğini düşündürmektedir. Son olarak, histopatolojik incelemeler, genç plazma verilen yaşlı ratların ince bağırsağında villus yapısında, goblet ve Paneth hücre yoğunluğunda bir iyileşme olduğunu gösterdi. Bu bulgular, genç plazmanın bağırsak bariyeri fonksiyonları ve yapısını iyileştirebileceğini, yaşlanma sürecinin etkilerini hafifletebileceğine işaret etmektedir. Genel olarak, çalışmamız genç plazma transfüzyonunun yaşlı bağırsak dokusunda olumlu etkiler yarattığını, böylece yaşa bağlı bağırsak bozukluklarını önlemek veya tersine çevirmek için bir strateji sunabileceğini öne sürmektedir.

2023, 69 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Genç kan plazması; Bağırsak geçirgenliği; Rat

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF YOUNG BLOOD PLASMA ADMINISTRATION ON INTESTINAL PERMEABILITY IN AGED RATS

Adnan MENEKSE

**Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Food Safety**

Advisor: Assist. Prof. Taha CEYLANI

Aging can lead to disruptions in intestinal permeability, potentially causing various health issues. Therefore, discovering potential strategies that can mitigate or reverse these effects of the aging process is crucial for public health. This study investigates the effects of young plasma transfusion on intestinal barrier functions and biomolecular structure in aged rats. In this study, young plasma obtained from 5-week-old male Sprague-Dawley rats was transfused into 24-month-old male Sprague-Dawley rats for 30 days. After the transfusion, ileum tissues obtained from the rats were examined. First, the levels of occludin and zona-occludin, tight junction proteins of the intestinal barrier, in these tissues were evaluated using the Western Blot analysis. The results showed that occludin and zona-occludin protein levels were significantly increased. Subsequently, the biomolecular structures of the ileum tissues were examined using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. FTIR spectroscopy is used to determine infrared absorption bands specific to certain functional groups of molecules, thus revealing lipid, protein, and nucleic acid profiles in the target tissue. Spectroscopy analyses showed a decrease in protein phosphorylation and carbonylation indices and an increase in amide protein after the young plasma transfusion. These changes suggest that the young plasma transfusion could reshape biomolecular structure disruptions caused by the aging process. Lastly, histopathological examination showed an improvement in the villus structure, goblet and Paneth cell density in the ileum of the aged rats given young plasma. These findings suggest that young plasma can improve intestinal barrier functions and structure, alleviating the effects of the aging process. Overall, our study suggests that young plasma transfusion creates positive effects in aged intestinal tissue, thus potentially providing a strategy for preventing or reversing age-related intestinal disorders.

2023, 69 Pages

Keywords: Young blood plasma; Intestinal permeability; Rat

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin süresince, hazırlamış olduğum yüksek lisans tez çalışmamın planlanması, araştırılması, test ve analizlerinin yapılması ve nihai olarak hazırlanmasında bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren çok değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI ve çalışmama olan desteklerinden dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanlarından Araş. Gör. Seda KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatım boyunca hep yanımda olan, her koşulda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, koşulsuz sevgilerini daima hissettiren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Bağırsak Geçirgenliği	2
1.1.1 Gastrointestinal sistem	3
1.1.2 Sıkı bağlantı (Tight Junction)	4
1.1.3 Fizyolojisi	8
1.1.4 Modülasyon	10
1.1.5 Klinik Önemi	11
1.2 Bağırsak Mikrobiyotası.....	11
1.2.1 Kompozisyon	12
1.2.2 Bağırsak mikrobiyotasının işlevleri	13
1.2.3 Bağırsak mikrobiyal kompozisyonunu etkileyen faktörler.....	18
1.2.4 Bağırsak mikrobiyotasının hastalıklarla ilişkisi.....	22
1.3 Disbiyoz	30
1.3.1 Nedenleri.....	31
1.3.2 Etkileri	32
1.3.3 Hastalıklarla ilişkisi	33
1.3.4 Tedaviler	36
1.4 Kan Plazması	37
1.4.1 Kan plazma değişimi	38
2. MATERYAL METOT	45
2.1 Hayvan Çalışmaları.....	45
2.2 Plazma Toplama ve Hazırlama	45
2.3 Western Blot Analizi	46
2.3.1 Bağırsak dokusundan protein izolasyonu	46
2.3.2 Uygulanan prosedür	46
2.4 Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi ile Örneklerin Analizi.....	47
2.4.1 Kızılötesi spektral bantların nicelendirilmesi	48
2.5 Histopatoloji Analizi.....	48
2.5.1 H&E boyama	48
2.6 İstatistik Analizi	49
3. BULGULAR	50

3.1 Sıkı Bağlantı Proteinlerinin İncelenmesi	50
3.2 Spektrokimyasal Band Analizi	51
3.3 Histopatoloji Analizi.....	52
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	54
4.1 Sonuç	57
KAYNAKLAR	59



SİMGELER ve KISALTMALAR

Kısaltmalar

AH	: Alzheimer Hastalığı
CH	: Crohn Hastalığı
DM	: Diabetes Mellitus
FMT	: Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GI	: Gastrointestinal
IBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IBS	: İrritabl Bağırsak Sendromu
IDDM	: İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus
KRK	: Kolorektal Kanser
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
LPS	: Lipopolisakkarit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAYKH	: Alkolsüz Yağlı Karaciğer Hastalığı
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
OSB	: Otistik Spektrum Bozukluğu
SIBO	: İnce Bağırsakta Aşırı Bakteri Üremesi
SIFO	: İnce Bağırsakta Aşırı Mantar Büyümesi
TMAO	: Trimetilamin-N-Oksit
UK	: Ülseratif Kolit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Bağırsak geçirgenliği, bağırsak mikrobiyotası ve mukozal immünoloji arasındaki ilişki (Bischoff ve ark., 2014)	2
Şekil 1.2 Üst ve alt insan gastrointestinal sistemi (Ruiz, 2008)	4
Şekil 1.3 Sıkı bağlantı şeması (Ruiz, 2006).....	5
Şekil 1.4 Sıkı kavşakları oluşturan transmembran proteinlerinin tasviri: okludin, claudinler ve jam proteinleri (Anonymous, 2018)	7
Şekil 1.5 Epitel hücrelerinin seçici geçirgenlik yollarının şeması (kırmızı oklar). Transselüler (hücreler aracılığıyla) ve paraselüler (hücreler arasında) yollar, bağırsak lümeni ve kan arasındaki maddelerin geçişini kontrol etmektedir. (Anonymous, 2016).....	9
Şekil 1.6 Bağırsak geçirgenliğini modüle eden faktörler (Anonim, 2021)	10
Şekil 1.7 Bağırsak geçirgenliğinin ilişkili olduğu hastalıklar.....	11
Şekil 1.8 Mikrobiyotanın kompozisyonu (Cresci ve Bawden, 2015).....	13
Şekil 1.9 Bağırsak mikrobiyotasının metabolizma üzerindeki bazı etkileri (Paturi, 2007)	15
Şekil 1.10 Patojen inhibisyonu (Parlak ve Dikmen, 2020).....	16
Şekil 1.11 Bağırsak-Beyin eksenini (Montiel-Castro ve ark., 2013).....	17
Şekil 3.1 Occludin üzerine yapılan Western Blot analizleri. A) Blotlar, anti-Zone-Occludin ve anti- β -aktin ile araştırıldı. Kontrol: kontrol grupları/4 hayvan örneği Plazma: kafeterya diyeti grubu/4 sıçan örneği B) Bant yoğunluğunun nicel analizi, β -aktin ifadesine normalize edildi. Deneyler 3 kez tekrarlandı, n=3.....	50
Şekil 3.2 Zone-Occludin üzerine yapılan Western Blot analizleri. A) Blotlar, anti-Zone-Occludin ve anti- β -aktin ile araştırıldı. Kontrol: kontrol grupları/4 hayvan örneği Plazma: kafeterya diyeti grubu/4 sıçan örneği B) Bant yoğunluğunun nicel analizi, β -aktin ifadesine normalize edildi. Deneyler 3 kez tekrarlandı, n=3.....	50
Şekil 3.3 İleum dokuları için çeşitli spektrokimyasal parametrelerdeki nicel değişiklikler. a) protein fosforilasyonu için indeks (A1241/A2967), b) protein fosforilasyonu (A1083/A1534), c) protein karbonilasyonu (A1743/A1536), d) amid-I protein konsantrasyonları (A1644+1536).....	51
Şekil 3.4 İleum dokuları için çeşitli spektrokimyasal parametrelerdeki nicel değişiklikler. a) lipid/protein içeriği (A2927+2853/A1644+1536), b) doymuş lipid içeriği için indeks (A2953/A2927+2853), c) nükleik asit/protein içeriği (A1242+1083/A1644+1536).....	52
Şekil 3.5 İleum kesitlerinin gruplardaki H&E boyamasının temsili görüntüleri ve lenfatik infiltrasyon alan fraksiyonu (%)nin niceliksel analizi; A) Kontrol, B) Plazma.	53

1. GİRİŞ

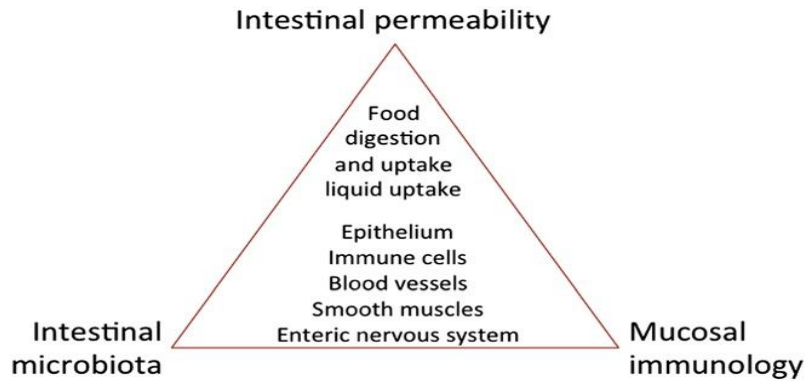
Neden bir bağırsak bariyerine ihtiyacımız var? Bağırsak bariyeri yaklaşık 400 m²'lik bir alanı kaplar ve vücudun enerji harcamasının yaklaşık %40'ını gerektirmektedir. Diyetteki besinlerin emilimini ve konakçı ile çevre arasında molekül alışverişini sağlarken su ve elektrolit kaybını, antijen ve mikroorganizmaların vücuda girmesini engeller (Brandtzaeg, 2011). Memeli bağırsak mukozasının özel uyarlamaları, görünüşte birbirine zıt iki işlevi yerine getirir: ilk olarak, kronik inflamasyona yol açmadan bağırsak simbiyotları ile barışçıl bir birlikte varoluşa izin vermek ve ikinci olarak, patojenlerden gelen tehdide göre ölçülü bir inflamatuvar ve savunma tepkisi sağlamak (Maynard ve ark., 2012). Harici bir "fiziksel" bariyer ve bir dahili "fonksiyonel" immünolojik bariyerden oluşan karmaşık birçok katmanlı sistemdir. Bu 2 bariyerin etkileşimi, dengelenmiş geçirgenliğin korunmasını sağlamaktadır (Scaldeferri ve ark., 2012). Bu karmaşık bariyeri anlamak için sadece bileşenlerinin işlevleri değil, aynı zamanda bakteri ve diğer lümen bileşenlerinin konakçının hücreleri ve reseptörleri ile etkileşim süreçleri de dikkate alınmalıdır. Deneysel veriler, yaşamın erken döneminde ve hatta muhtemelen daha sonraki yaşamda bağırsak ortakyaşarlarıyla barışçıl bir arada yaşamının bozulmasının, ciddi immün yetmezlik ve hastalık riskine yol açtığını göstermiştir (Camilleri ve ark., 2012). Bu tür bulgular, bağırsak bariyeri kontrol mekanizmalarının bozulmasının tehlike ve muhtemelen hastalık anlamına geldiği hipotezini desteklemektedir.

Bağırsak bariyeri ile bağırsak geçirgenliği arasındaki fark nedir? Muhtemelen aynı anlama gelmeseler de iki terim eşanlamlı olarak kullanılmıştır. Gelecekteki karışıklığı önlemek ve hastalık önleme ve hastalık üzerindeki etkilerini değerlendirmek için, bunları değerlendirme araçları olarak bu tür parametrelerin net bir tanımı zorunludur. Aslında, bağırsak geçirgenliği, bağırsak kommensal mikrobiyotasının yanı sıra mukozal bağışıklık sisteminin öğeleriyle yakından bağlantılı bir bariyer özelliğidir. Bağırsak mikrobiyota modifikasyonları, mukus tabakası değişiklikleri ve epitel hasarı gibi birçok faktör bağırsak geçirgenliğini değiştirebilir ve lümen içeriğinin bağırsak duvarının iç katmanlarına yer değiştirmesine neden olabilir. Ayrıca, alkol ve enerji yoğun yiyecekler gibi yaşam tarzı ve diyet faktörleri, alkol ve enerji yoğun Batı tarzı diyet gibi bağırsak geçirgenliğini artırabilmektedir (Pendyala ve ark., 2012).

Bağırsak bariyeri ve bağırsak geçirgenliğinin klinik önemi nedir? Bağırsak bariyer fonksiyonlarının kaybının aniden meydana gelebileceği fikrine dair artık artan

kanıtlar bulunmaktadır, örn. gram negatif sepsis ve çoklu organ yetmezliği (MOF ile sonuçlanan veya büyük bir travmayı takiben yavaş yavaş kronik inflamatuvar hastalıklara yol açmaktadır. Son on yılda bağırsak bariyeri ve hastalıklar arasındaki bağlantıyı öğrenilmiş olsada, mekanizmalar tam olarak anlaşılmamaktadır. Örneğin, başlangıçta bağırsak bariyeri disfonksiyonuna neyin neden olduğu ve onu neyin önlediği veya düzelttiği hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. İlki, virüs enfeksiyonları, mukoza perfüzyonunun azalması, ilaçlar veya mikrobiyotadaki değişiklikler gibi farklı olayları içerebilmektedir. Yeni veriler, bağırsak bariyeri ve bağırsak mikrobiyotasının, mekanizması yakın zamana kadar büyük ölçüde belirsiz olan idiyopatik karaciğer fibrozu veya bağırsak disbiyozu gibi birçok farklı hastalıkta rol oynadığını göstermektedir (Serino ve ark., 2012).

Bu derleme makalesinde, bağırsak mikrobiyotası ve bağırsak geçirgenliği insan sağlığı ve hastalıkları ile ilişkisi konusunda son on yılda yayınlanan önemli bulgular incelenmektedir. Önce bağırsak geçirgenliği durumunu ve bağırsak mikrobiyotasının genel özellikleri özetlenmektedir. Daha sonra, bağırsak geçirgenliği ve bağırsak mikrobiyotasının disbiyozis durumunu ve hastalıklarla aralarındaki ilişkileri tartışılmaktadır. Son olarak, bağırsak geçirgenliği ve bağırsak mikrobiyal ekolojisini modüle ederek insan sağlığının iyileştirilmesinde kullanılmak üzere prebiyotikler, probiyotikler, ilaçlar ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) dahil olmak üzere dört umut verici yaklaşım önerilmektedir.



Şekil 1.1 Bağırsak geçirgenliği, bağırsak mikrobiyotası ve mukozal immünoloji arasındaki ilişki (Bischoff ve ark., 2014)

1.1 Bağırsak Geçirgenliği

Bağırsak geçirgenliği, gastrointestinal sistem içinden bağırsak duvarını kaplayan hücreler aracılığıyla vücudun geri kalanına geçen materyalin kontrolünü tanımlayan bir

terimdir. Bağırsak normalde, besinlerin bağırsaktan geçmesine izin veren ve aynı zamanda potansiyel olarak zararlı maddelerin (antijenler gibi) bağırsaktan ayrılmasını ve vücuda daha geniş bir şekilde geçişini engelleyen bir bariyer işlevi sürdüren seçici geçirgenlik sergilemektedir. Sağlıklı bir insan bağırsağında, küçük partiküller (yarıçapta $< 4 \text{ \AA}$) sıkı bağlantı claudin gözenek yolları boyunca geçebilmektedir ve 10-15 \AA 'ye (3,5 kDa) kadar olan partiküller paraselüler boşluk alım yolundan geçebilmektedir (Falk ve Campieri, 2001).

1.1.1 Gastrointestinal sistem

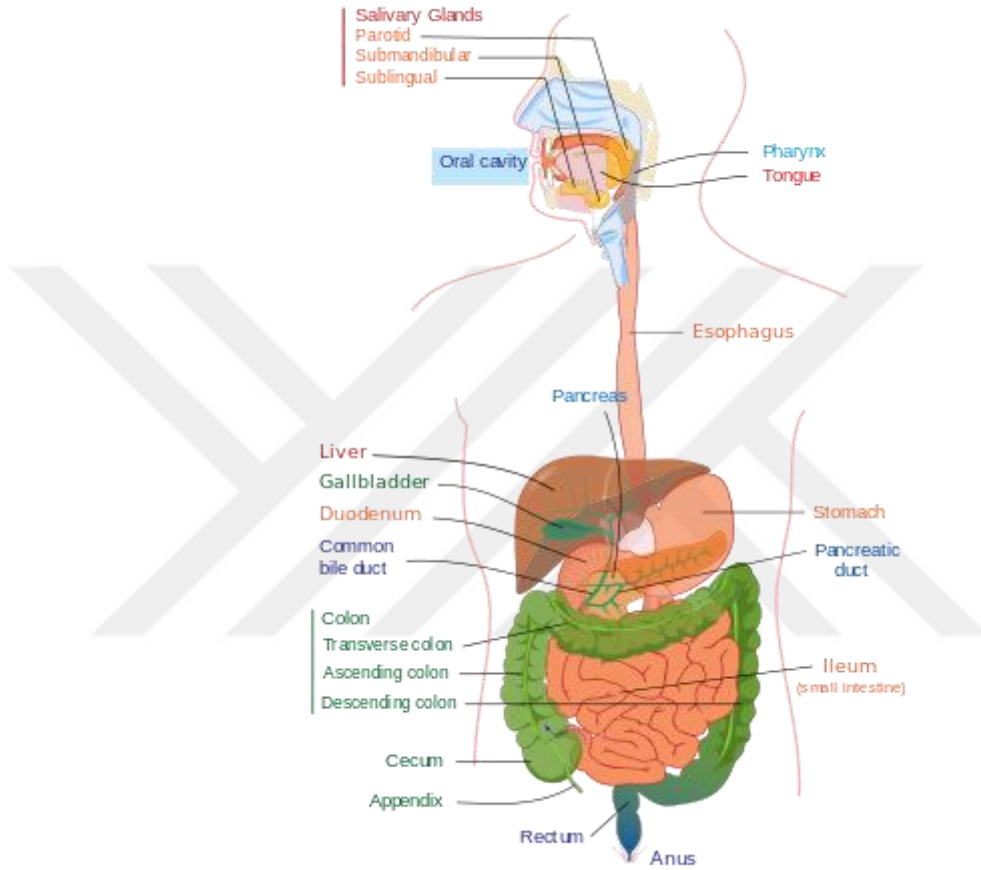
Gastrointestinal sistem (GI yolu, GIT, sindirim sistemi, sindirim yolu, sindirim kanalı), insanlarda ve diğer hayvanlarda sindirim sisteminin tüm organlarını içeren ağızdan anüse kadar olan yoldur. Ağız yoluyla alınan yiyecekler, besinleri çıkarmak ve enerjiyi emmek için sindirilmekte ve atıklar dışkı olarak dışarı atılmaktadır. Ağız, yemek borusu, mide ve bağırsakların tümü gastrointestinal sistemin bir parçasıdır. Gastrointestinal, mide ve bağırsaklarla ilgili veya ilgili bir sıfat anlamıdır. Bu yol, ilgili anatomik yapıların veya bir dizi bağlı vücut organının bir koleksiyonudur.

Tüm omurgalılar ve omurgasızların çoğu sindirim sistemine sahiptir. Süngerler, cnidarians ve ctenophores, yiyeceklerin alındığı ve atıkların dışarı atıldığı, iki yerine sadece bir açıklığa sahip eksik bir sindirim sistemine sahip erken omurgasızlardır.

İnsan gastrointestinal sistemi yemek borusu, mide ve bağırsaklardan oluşur ve üst ve alt gastrointestinal kanallara ayrılmaktadır. GI yolu, ağız ve anüs arasındaki tüm yapıları içerir, sindirimin ana organlarını, yani mide, ince bağırsak ve kalın bağırsağı içeren sürekli bir geçit oluşturmaktadır. Bununla birlikte, tam insan sindirim sistemi, gastrointestinal sistem ile yardımcı sindirim organlarından (dil, tükürük bezleri, pankreas, karaciğer ve safra kesesi) oluşmaktadır. Yol ayrıca her segmentin embriyolojik kökenini yansıtan ön bağırsak, orta bağırsak ve arka bağırsak olarak ayrılabilir. Otopside tüm insan GI yolu yaklaşık dokuz metre (30 fit) uzunluğundadır. Düz kas dokusu tüpleri olan bağırsaklar, yarı gergin bir durumda sabit kas tonusunu korudukları için canlı vücutta önemli ölçüde daha kısadır, ancak lokal distansiyon ve peristaltizme izin vermek için noktalarda gevşeyebilmektedir.

Gastrointestinal sistem, bağışıklık sağlığının ve metabolizmasının korunmasında çeşitli rollere sahip yaklaşık 4.000 farklı bakteri türüyle trilyonlarca mikroorganizma içermektedir. GI yolunun hücreleri, sindirim sürecini düzenlemeye yardımcı olmak için

hormonlar salgılamaktadır. Gastrin, sekretin, kolesistokinin ve ghrelin dahil olmak üzere bu sindirim hormonlarına, intrakrin veya otokrin mekanizmalar aracılığıyla aracılık edilir; bu, bu hormonları salgılayan hücrelerin evrim boyunca korunmuş yapılar olduğunu göstermektedir (Greenwood-Van Meerveld ve ark., 2017).



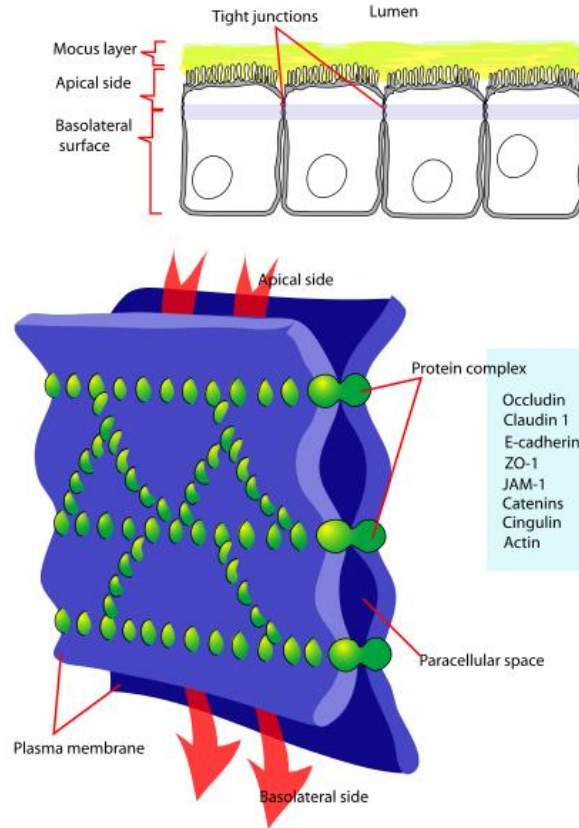
Şekil 1.2 Üst ve alt insan gastrointestinal sistemi (Ruiz, 2008)

1.1.2 Sıkı bağlantı (Tight Junction)

Tıkayıcı bağlantılar veya zonula okludentler (tekil, zonula okludens) olarak da bilinen sıkı bağlantılar, genel işlevi taşınan çözünen maddelerin ve suyun sızmasını önlemek ve hücre dışı yolu kapatmak olan çok proteinli bağlantı kompleksleridir. Sıkı bağlantılar, küçük kationlar, anyonlar veya su için seçici kanallar oluşturarak sızdıran yollar olarak da hizmet edebilir. Sıkı bağlantılar çoğunlukla omurgalılarda bulunur [

Tunikatlar hariç (Banerjee ve ark., 2006)]. Omurgasızlarda karşılık gelen bağlantılar, bölmeli bağlantılardır.

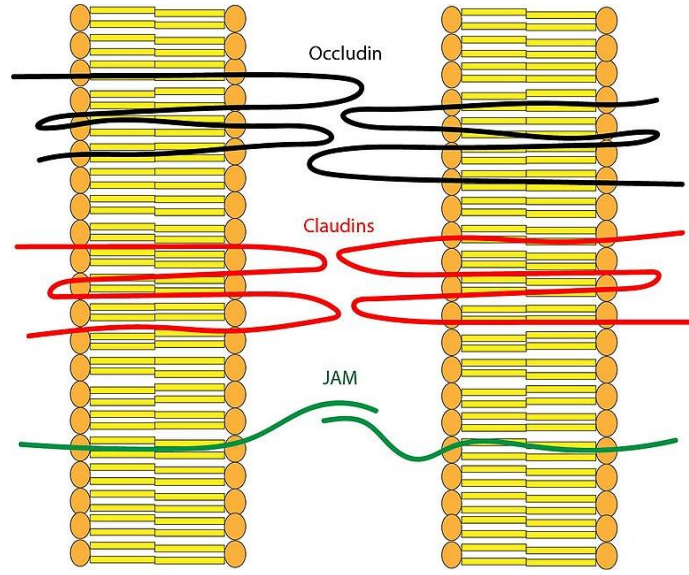
Sıkı bağlantılar, her biri diğerlerinden bağımsız olarak hareket eden, sızdırmaz şeritlerden oluşan dallanan bir ağdan oluşmaktadır. Bu nedenle, birleşme yerinin iyon geçişini önlemedeki etkinliği, iplik sayısı ile katlanarak artmaktadır. Her bir iplik, her iki plazma zarına gömülü bir dizi transmembran proteinden oluşur ve hücre dışı alanlar birbirine doğrudan bağlanmaktadır. Sıkı bağlantıları oluşturan en az 40 farklı protein bulunmaktadır. Bu proteinler hem transmembran hem de sitoplazmik proteinlerden oluşmaktadır. Üç ana transmembran proteini, okludin, claudin ve bağlantı adezyon molekülü (Arumugam ve ark., 2011) proteinleridir. Bunlar, zincirleri hücre iskeletinin aktin bileşenine sabitleyen, plazma zarının hücre içi tarafında yer alan ZO-1 gibi farklı çevresel zar proteinleri ile birleşir Böylece sıkı bağlantılar, bitişik hücrelerin hücre iskeletlerini birleştirir (Anderson ve Van Itallie, 2009).



Şekil 1.3 Sıkı bağlantı şeması (Ruiz, 2006)

Transmembran proteinleri:

- Okludin, tanımlanan ilk integral membran proteindir. ~60kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir. Dört transmembran alanından oluşur ve proteinin hem N-terminali hem de C-terminali hücre içidir. İki hücre dışı döngü ve bir hücre içi döngü oluşturmaktadır. Bu döngüler, hücre dışı geçirgenliği düzenlemeye yardımcı olmaktadır. Okludin ayrıca hücre yapısı ve bariyer işlevinde de önemli bir rol oynamaktadır (Liu ve ark., 2012).
- Claudinler, okludin'den sonra keşfedilmiştir ve 24 farklı memeli proteininden oluşan bir ailedir. ~20kDa moleküler ağırlığa sahiptirler. Dört transmembran alanı ve benzer ilmek yapısına sahip oldukları için okludin'inkine benzer bir yapıya sahiptirler. Sıkı bağlantıların belkemiği oldukları ve sıkı bağlantının paraselüler boşluğu kapatma yeteneğinde önemli bir rol oynadıkları anlaşılmaktadır. İnsan vücudunun farklı yerlerinde farklı claudinler bulunmaktadır (Schneeberger ve Lynch, 2004).
- Kavşak Yapışma Molekülleri (Arumugam ve ark., 2011), immünoglobulin süper ailesinin bir parçasıdır. ~40kDa moleküler ağırlığa sahiptirler. Yapıları, dört yerine sadece bir transmembran alanına sahip olmaları bakımından diğer bütünleyici zar proteinlerinininkinden farklıdır. Sıkı bağlantıların hücre dışı yol işlevini düzenlemeye yardımcı olur ve ayrıca hücre polaritesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (Luissint ve ark., 2012).
- Angulinler, üç hücreli sıkı bağlantılarda lokalize olan proteinlerin görsel olarak taranmasıyla 2011 yılında keşfedildi. Angulinlerin üç üyesi vardır: Angulin-1/LSR, Angulin-2/ILDR1 ve Angulin-3/ILDR2. JAM'lere benzer şekilde, angulinler tek transmembran proteinlerdir. Tüm angulinler, hücre dışı bölgede bir immünoglobulin benzeri alana ve karboksi terminalinde bir PDZ bağlayıcı motife sahiptir. Üç hücreli sıkı bağlantıların kurulmasından sorumludurlar ve hücre dışı bariyer fonksiyonunu düzenlemektedir (Higashi ve Miller, 2017).



Şekil 1.4 Sıkı kavşakları oluşturan transmembran proteinlerinin tasviri: okludin, claudinler ve jam proteinleri (Anonymous, 2018)

1.1.2.1 Fonksiyonları

Hayati işlevleri yerine getirirler:

- Hücreleri bir arada tutmaktadırlar.
- Koruyucu bariyerler ve malzeme taşınması ve ozmotik dengenin korunması gibi amaçlara hizmet eden fonksiyonel bariyerler olarak alt gruplara ayrılabilen bariyer fonksiyonu:
 - Sıkı bağlantılar, apikal ve lateral/bazal yüzeyler arasında integral membran proteinlerinin lateral difüzyonunu önleyerek hücrelerin polaritesini korumaya yardımcı olur ve her yüzeyin özel fonksiyonlarının (örneğin apikal yüzeyde reseptör aracılı endositoz ve bazolateral yüzeyde ekzositoz) korunmasına izin vermektedir. Bu, transselüler taşınımı korumayı amaçlamaktadır.
 - Sıkı bağlantılar, moleküllerin ve iyonların bitişik hücrelerin plazma zarları arasındaki boşluktan geçişini engeller, bu nedenle materyallerin dokudan geçmek için hücrelere fiilen (difüzyon veya aktif taşıma yoluyla) girmesi gerekmektedir. Elektron mikroskopunda donma-kırılma yöntemleri kullanılarak yapılan araştırma, hücre zarlarındaki sıkı bağlantıların yanal kapsamını ortaya çıkarmak için idealdir ve sıkı bağlantıların nasıl oluştuğunu göstermede yararlı olmuştur. Sıkı bağlantı bariyer sistemi tarafından zorunlu tutulan kısıtlı hücre içi yol, belirli bir dokudan hangi maddelerin geçebileceği üzerinde kesin kontrol sağlamaktadır.

(Sıkı bağlantılar, kan-beyin bariyerinin korunmasında bu rolü oynamaktadır.) Şu anda, kontrolün aktif mi yoksa pasif mi olduğu ve bu yolların nasıl oluştuğu hala belirsizdir. Böbrek proksimal tübülündeki sıkı kavşak boyunca paraselüler taşıma için yapılan bir çalışmada, ikili bir yol modeli önerilmiştir: TJ kompleksinde seyrek süreksizlikler ve çok sayıda küçük dairesel gözenek tarafından oluşturulan büyük yarık kırıkları (Guo ve ark., 2003).

İnsan fizyolojisinde, farklı tipte bariyer mekanizması kullanan iki ana tip epitel bulunmaktadır. Deri gibi epidermal yapılar, birçok keratinize skuamöz hücre katmanından bir bariyer oluşturmaktadır. Öte yandan iç epitel, bariyer işlevleri için daha sık sıkı bağlantılara dayanmaktadır. Bu tür bir bariyer çoğunlukla sadece bir veya iki hücre katmanından oluşmaktadır. Sıkı hücre bağlantılarının cildin ve benzeri dış epitelin bariyer işlevinde de herhangi bir rol oynayıp oynamadığı uzun zamandır belirsizdi, ancak son araştırmalar bunun gerçekten de böyle olduğunu gösteriyor (Kirschner ve Brandner, 2012).

1.1.2.2 Sınıflandırma

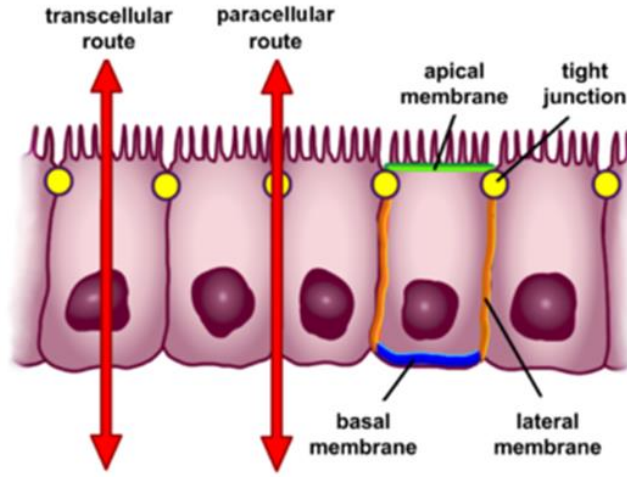
Epitel, sıkı bağlantıların su ve çözünen hareketini önleme yeteneğine bağlı olarak "sıkı" veya "sızdıran" olarak sınıflandırılır:

Sıkı epitel, hücreler arasındaki çoğu hareketi engelleyen sıkı bağlantılara sahiptir. Sıkı epitel örnekleri arasında distal kıvrımlı tübül, böbrekteki nefronun toplayıcı kanalı ve karaciğer dokusunda dallanan safra kanalları bulunmaktadır. Diğer örnekler, kan-beyin bariyeri ve kan beyin omurilik sıvısı bariyeridir.

Sızdıran epitel bu sıkı bağlantılara sahip değildir veya daha az karmaşık sıkı bağlantılara sahiptir. Örneğin, çok sızdıran bir epitel olan böbrek proksimal tübülündeki sıkı bağlantı, sadece iki ila üç bağlantı şeridinde sahiptir ve bu teller nadiren büyük yarık kırılmaları sergilemektedir.

1.1.3 Fizyolojisi

Çözünenler, barsak epitelinden ya hücreler arasında paraselüler yolla ya da hücrelerden transselüler yolla geçebilmektedir. Transselüler yoldan geçiş, çözünen maddenin özelliklerine bağlı olarak farklı şekillerde gerçekleşebilmektedir. Peptidlerin epitelden nasıl geçtiğindeki değişikliklerin, GI bozukluklarının patofizyolojisinde büyük önem taşıdığına inanılmaktadır.



Şekil 1.5 Epitel hücrelerinin seçici geçirgenlik yollarının şeması (kırmızı oklar). Transselüler (hücreler aracılığıyla) ve paraselüler (hücreler arasında) yollar, bağırsak lümeni ve kan arasındaki maddelerin geçişini kontrol etmektedir. (Anonymous, 2016)

1.1.3.1 Transselüler yol

Transselüler yol, lipitte çözünen ve küçük hidrofilik bileşikler tarafından kullanılan, hücreler boyunca pasif difüzyon yolu olarak nitelendirilmektedir. Ayrıca hücreden aktif ve enerjiye bağlı alım da gerçekleşmektedir. Hücre zarından veya hücre dışı boşluktan geçemeyen proteinler ve bakteriyel ürünler gibi büyük partiküller ve moleküller, endositoz yoluyla, yani hücre tarafından plazma zarının invajinasyonu ve ardından vezikül oluşumu yoluyla alınabilmektedir. Bağırsak bariyer fonksiyonuna odaklanan çalışmalarda özellikle paraselüler belirteçlerle birlikte bakteri ve bakteriyel ürünlerin geçişi araştırılmaktadır. Endositozu takiben, vücudun uygun bir bağışıklık tepkisi başlatabileceği yabancı antijenlerin alımına aracılık etmektedir. Endositoz ve transsitoz, konukçu girişi sağlamak için yabancı mikroplar tarafından manipüle edilen yollar olmaktadır ve sağlam bir bariyer, bu yolların doğru işlevine ve hücrenin yabancı maddeleri ortadan kaldırma yeteneğine bağlı değişebilmektedir. Epitel hücrelerinde endositoz, alınan maddenin doğasına bağlı olarak farklı şekilde ortaya çıkabilmektedir (Garcia-Castillo ve ark., 2017).

1.1.3.2 Paraselüler yol

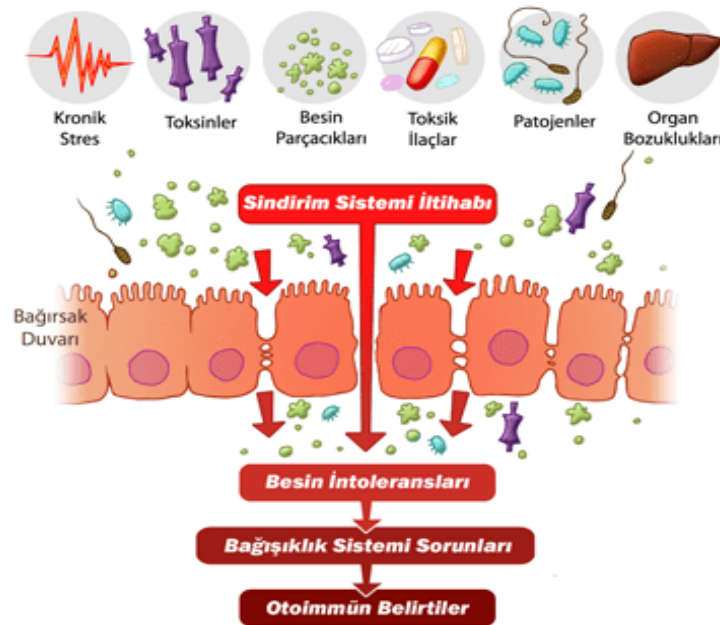
Paraselüler yol, sıkı bağlantılar ve hücreler arası boşluklar yoluyla hücreler arasındaki geçişi temsil etmektedir. Bu yol, orta büyüklükteki (in vivo ≤ 600 Da; hücre dizilerinde ≤ 10 kDa in vitro) hidrofilik moleküller tarafından kullanılmaktadır ve normal olarak, paraselüler yol protein boyutlu moleküllere karşı geçirgen olmamaktadır

ve bu nedenle antijenik makromoleküllere karşı etkili bir bariyer oluşturmaktadır. Epitel hücreleri birbirine sıkı bağlantılar, yapışık bağlantılar, dezmozomlar ve boşluk bağlantılarından oluşan bağlantı kompleksleriyle birleştirilmektedir. Zonula okludens olarak da adlandırılan sıkı bağlantılar, yanal zarın apikal kısmında yer almaktadır ve bir bağlantı telleri ağı oluşturmaktadır. Lümene doğru ve uzağa epitel taşınmasında ve epitel hücrelerinin polaritesinin korunmasında önemli etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (Hollander ve Kaunitz, 2020).

1.1.4 Modülasyon

Son on yılda, kandaki bağırsak geçirgenliğini değerlendirebilen güvenilir biyobelirteçlerin belirlenmesi için özel bir çaba sarf edilmiştir. Umut verici sonuçlarla tanımlanan ilk proteinlerden biri, bakteriyel enterotoksin zonula okludens toksininin endojen bir insan analogu olan zonulin (47 kDa) olmuştur. Zonulin'in bağırsak epitelindeki sıkı bağlantı protein komplekslerini sökerek bağırsak geçirgenliğini modüle ettiği öne sürülmüştür. Zonulin'in serum veya plazma düzeylerinin bağırsak geçirgenliğini yansıttığı öne sürülmüştür ve artan zonulin seviyeleri ile çeşitli koşullar ilişkilendirilmiştir (Fasano ve ark., 2000).

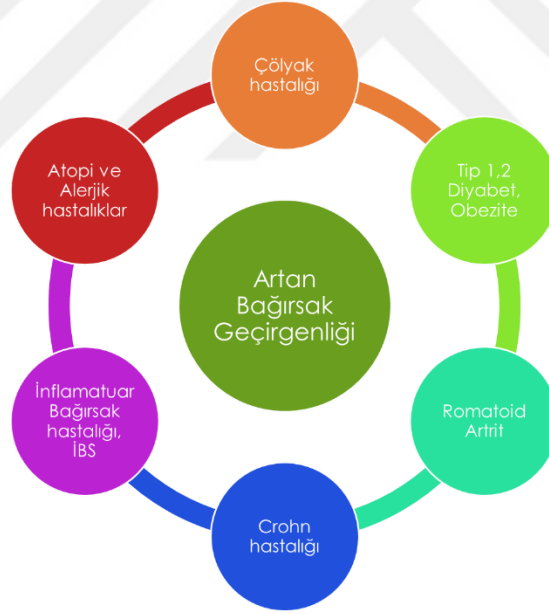
OTOİMMÜN HASTALIKLARIN BAŞLICA NEDENLERİ



Şekil 1.6 Bağırsak geçirgenliğini modüle eden faktörler (Anonim, 2021)

1.1.5 Klinik Önemi

“Sızdıran bağırsak” kavramına artan ilgi ve bunun sayısız gastrointestinal (GI) hastalıkla ilişkisi, farklı geçmişlere sahip araştırmacıların farklı koşullarda bağırsak bariyeri ile ilgili fonksiyonel çalışmalar yapmaya yoğun bir ilgi duymasına yol açmıştır. Bağırsak bariyer fonksiyonunu araştırmak için metodolojik araçlar hızla genişlemekte ve sürekli olarak yeni metodolojik yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bağırsak fonksiyonel çalışmaları alanında yeni olan araştırma grupları için en uygun tekniğin belirlenmesi bu nedenle zor olabilmektedir. Bağırsak bariyeri işlevi, epitel hücre tabakasından ya epitel hücreleri arasında (paraselüler yol) ya da hücrelerden (transselüler yol) alttaki mukozaya geçen antijenler ve bakteriler gibi lümen içeriğinin translokasyonunun düzenlenmesini içermektedir. Parkinson hastalığı, obezite ve tip 2 diyabet gibi birkaç farklı durumda, bağırsak geçirgenliğinde artış ve işlevsiz bir bariyerin belirtileri gözlemlenmiştir (Camilleri ve ark., 2012).



Şekil 1.7 Bağırsak geçirgenliğinin ilişkili olduğu hastalıklar

1.2 Bağırsak Mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası, böcekler de dahil olmak üzere insanların ve hayvanların sindirim kanallarında yaşayan karmaşık bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanmaktadır. İnsanlarda, bağırsak mikrobiyotası, vücudun diğer bölümlerine kıyasla en fazla sayıda mikroorganizmaya ve en fazla türe sahip olduğu saptanmıştır.

Doğumdan hemen sonra sindirim sistemini kolonize eden bakteri, virüs ve bazı ökaryotlar dahil binlerce mikroorganizmadan oluşmaktadır.

Bağırsak mikrobiyotası, 50'den fazla farklı filumda dağılmış 1500'den fazla türden oluşmaktadır. Bacteroidetes ve Firmicutes'in ardından Proteobacteria, Fusobacteria, Tenericutes, Actinobacteria ve Verrucomicrobia'nın en baskın filum olduğu ve insanlarda toplam mikrobiyal popülasyonun %90'ını oluşturduğu bildirilmiştir. Bağırsak mikrobiyota bileşimini ve işlevini değiştirebilecek birkaç faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında konak genetiği, diyet, yaş, doğum şekli ve antibiyotikler bulunmaktadır (Jethwani ve Grover, 2019).

Bağırsak mikrobiyotasının insan vücudunda, mukozal yüzeyleri kolonize ederek patojenlerden korunmayı desteklemek ve farklı antimikrobiyal maddelerin yaratılmasını desteklemek, bağışıklık sistemini güçlendirmek, sindirim ve metabolizmada hayati bir rol oynamak, epitel hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını kontrol etmek gibi birçok önemli işlevi bulunmaktadır. İnsülin direncini değiştirmek ve salgılanmasını etkilemek, beyin-bağırsak iletişimini etkilemek ve böylece konağın zihinsel ve nörolojik fonksiyonlarını etkilemek, dolayısıyla bağırsak mikrobiyotası normal bağırsak fizyolojisi ve sağlığının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Zheng ve ark., 2019).

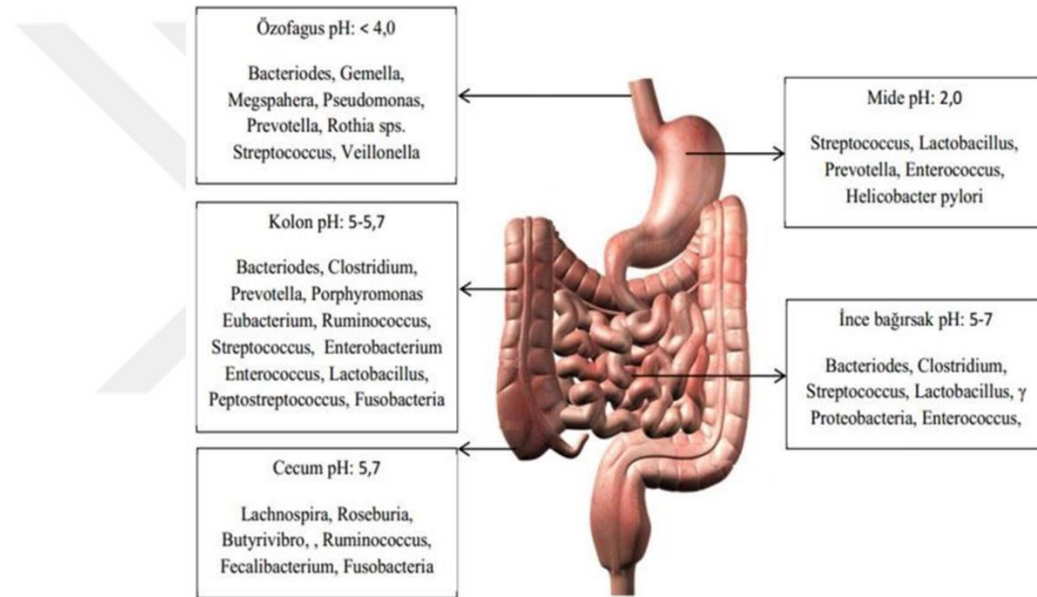
Bağırsak mikrobiyota popülasyonunun bozulması, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBH), obezite ve diyabet, alerji, otoimmün hastalıklar ve kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli insan enfeksiyonlarıyla ilişkisi bulunmaktadır. Ayrıca, probiyotiklerin, prebiyotiklerin ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) tekniklerinin uygulanması gibi bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve işlevlerini modüle etmek için çok sayıda yaklaşım bulunmaktadır (Nishino ve ark., 2018).

1.2.1 Kompozisyon

Bağırsak mikrobiyotasının mikrobiyal bileşimi, sindirim sistemi boyunca değişmektedir. Mide ve küçük sindirim sisteminde, nispeten az sayıda bakteri türü bulunmaktadır. Bununla birlikte, kolon, her gram bağırsak maddesi için 10^{12} hücreye kadar yoğun nüfuslu bir mikrobiyal ekosistem içermektedir. Bu bakteriler yaklaşık 300 ve 1000 farklı türü temsil ederken, bakterilerin %99'u yaklaşık 30 veya 40 türden kaynaklanmaktadır. Sindirim sistemindeki bolluklarının bir sonucu olarak, bakteri türleri dışı kuru kütlelerinin %60'ını oluşturmaktadır. Mantarlar, protistler, arkeler ve

virüsler de bağırsak florasında bulunmaktadır, ancak aktiviteleri hakkında daha az şey bilinmektedir.

Bağırsaktaki bakterilerin çoğu (%99) anaerobtur, ancak çekumda aerobik mikroorganizmaların varlığı saptanmıştır. İnsan bağırsağında en baskın bakteri filumu Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria ve Proteobacteria'dır. En çok kaydedilen bakteri cinsi Bacteroides, Clostridium, Peptococcus, Bifidobacterium, Eubacterium, Ruminococcus, Faecalibacterium ve Peptostreptococcus'tur. Bu cinsler arasında en bol bulunan Bacteroides; tek başına bu aileden türler, bağırsaktaki bakterilerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır, bu cinsin özellikle konakçı organizmanın işleyişinde önemli olduğunu düşündürmektedir (Shapira, 2016).



Şekil 1.8 Mikrobiyotanın kompozisyonu (Cresci ve Bawden, 2015)

1.2.2 Bağırsak mikrobiyotasının işlevleri

İnsan bağırsak mikrobiyotasının oluşumu, doğumdan önce yaşamın erken döneminde başlamaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, konakçı organizmanın normal işleyişinde önemli bir rol oynamaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, konakçı ile etkileşime girerek insan sağlığını olumlu veya olumsuz etkileyen çeşitli metabolik ürünleri sentezleyebilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası, bağırsak yüzeylerinde yaşar ve çoğalır ve patojenik mikroorganizmaların istilasını önleyen stabil bir sistem oluşturmaktadır.

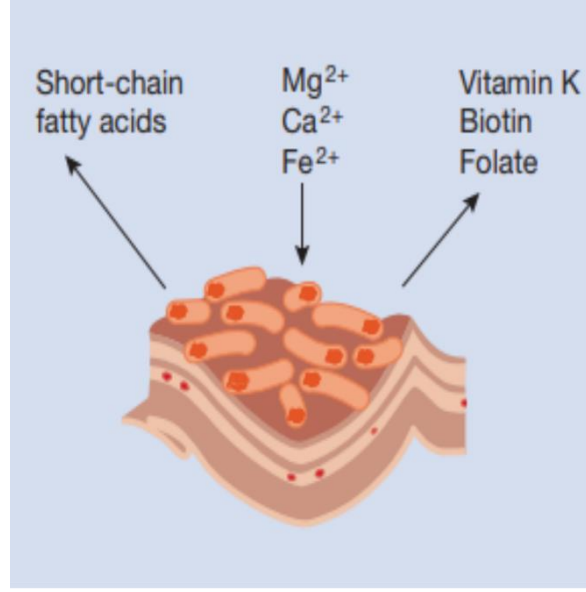
1.2.2.1 Metabolizmada bağırsak mikrobiyotasının rolü

Genel olarak mikrobiyota, diyet öğelerinin biyoaktif gıda bileşenlerine metabolize edilmesinden sorumludur. Bu bakteriler selüloz, hemiselüloz, dirençli nişasta, pektin, oligosakkaritler ve lignin gibi sindirilemeyen karbonhidratları asetik, propiyonik ve butirik asitler gibi kısa zincirli yağ asitlerine (KZYA'lar) metabolize edebilmektedir. Bu yağ asitleri üst gastrointestinal sistemdeki sindirimden kaçmakta ve kolona girmektedir. Bu metabolik ürünler esas olarak Firmicutes, Bacteroidetes ve bazı anaerobik bağırsak mikroorganizmaları tarafından üretilmektedir. Kısa zincirli yağ asitlerinin biyosentezinin bozulması, konakçı için birçok patolojik sonuca neden olmaktadır (Lin ve Zhang, 2017).

Mikrobiyota ayrıca biyotin, tiamin, kobalamin, riboflavin, nikotin ve pantotenik asitler gibi vitamin sentezinde ve ayrıca B ve K vitamini gibi vitamin sentezinde önemli bir rol oynadığı için konakçı organizma üzerinde faydalı etkiler gösterebilmektedir. İlginç bir şekilde, vitamin biyosentez yollarının üç farklı enterotipte meydana geldiğini bildirilmiştir; enterotip 1 askorbat, riboflavin, biyotin ve pantotenik asit biyosentezinde yer alırken, enterotip 2 folik asit ve tiamin biyosentezinde yer almıştır (LeBlanc ve ark., 2013).

Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasının, merkezi sinir ve periferik enterik sistemleri etkileyebilecek bazı nörokimyasalları sentezleme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Örneğin, gama amino bütirik asit (GABA) beyinde önemli bir inhibitör nörotransmitterdir ve birçok nöropsikiyatrik bozukluk GABA disfonksiyonuna bağlanmıştır (Avoli ve Krnjević, 2016).

Ayrıca karbonhidratlar, dallı zincirli amino asitler, aminler, fenoller, indoller ve fenilasetik asit, bağırsak mikrobiyotasının etkisiyle üretilmektedir. Ek olarak, bağırsak mikrobiyotasının safra asitleri, kolesterol ve konjuge yağ asitlerinin sentezinde yer aldığı bildirilmektedir (Windey ve ark., 2012).

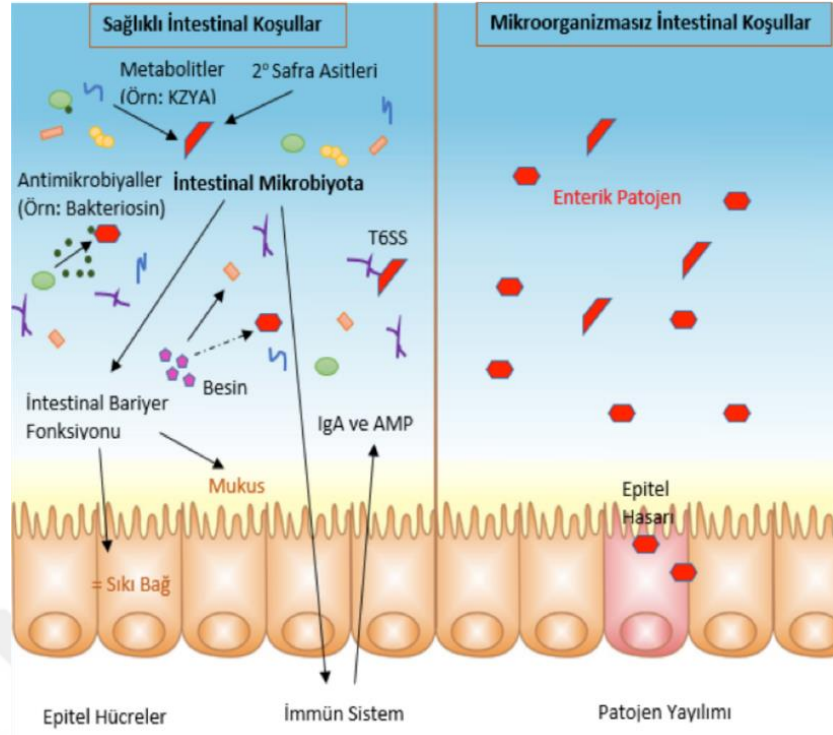


Şekil 1.9 Bağırsak mikrobiyotasının metabolizma üzerindeki bazı etkileri (Paturi, 2007)

1.2.2.2 Bağırsak mikrobiyotasının koruyucu rolü

Mikrobiyotanın koruyucu rolü, bağırsak yüzeylerini işgal ederek ve patojenik mikroorganizmaların istilasını önleyen bir sistem stabilitesi yaratmaktır. Ek olarak, bağırsak mikrobiyotasının metabolik kapasiteleri, kısa zincirli yağ asitleri (KZYA'lar) üreten anaerobik fermantasyon yoluyla sindirilemeyen bileşiklerin parçalanmasını içermektedir. Bu fermantasyon ürünleri, bağırsak epitel hücreleri için önemli bir enerji kaynağı olarak hizmet etmekte ve bu nedenle mukozal bariyeri güçlendirmektedir. Bu nedenle, KZYA'lar insan sağlığını iyileştirmedeki rollerine büyük önem verilmektedir (Bron ve ark., 2017).

Ayrıca, KZYA'ların umut verici anti-inflamatuar ve kemo-önleyici özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir, bu nedenle tümör baskılayıcı olarak kabul edilmektedirler. Propionat ve bütiratın anti-kanserojen ve anti-inflamatuar etkileri doğrulanmıştır. Sağlıklı olanlara kıyasla kolon kanserli hastalarda bütirat üreten mikroorganizmalar azalmıştır. Bu özellikler, kolonositlerde ve bağışıklık hücrelerinde histon deasetilaz aktivitesini azaltma yetenekleriyle ortaya çıkmıştır (Morrison ve Preston, 2016).



Şekil 1.10 Patojen inhibisyonu (Parlak ve Dikmen, 2020)

1.2.2.3 Bağırsak mikrobiyotasının kemik büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkisi

Bağırsak mikrobiyotası ve kemikler arasındaki ilişki karmaşıktır ve diyetten besin emiliminin düzenlenmesi (örneğin, Ca ve P), mikrobiyal ürünlerin bağırsak endoteli boyunca translokasyonu (örneğin, LPS ve KZYA'lar) ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi gibi birçok mekanizmayı içermektedir.

Bağırsak mikrobiyotasının, KZYA'lar aracılığıyla kemik büyümesi ve gelişimi üzerinde önemli bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Bağırsak mikrobiyotası tarafından KZYA'ların fermentasyonu yoluyla daha yüksek kalsiyum emilimi üretilmiştir. Kalsiyum emiliminin ve kemikle ilgili diğer minerallerin artırılması, bağırsak mikrobiyotasının kemik gelişimini artırabileceği başka bir olası mekanizmadır. Kalsiyum emildikten sonra kalsiyum hidroksiapatit olarak dişlerde ve kemiklerde depolanmaktadır ve burada dokulara güç sağlamaktadır.

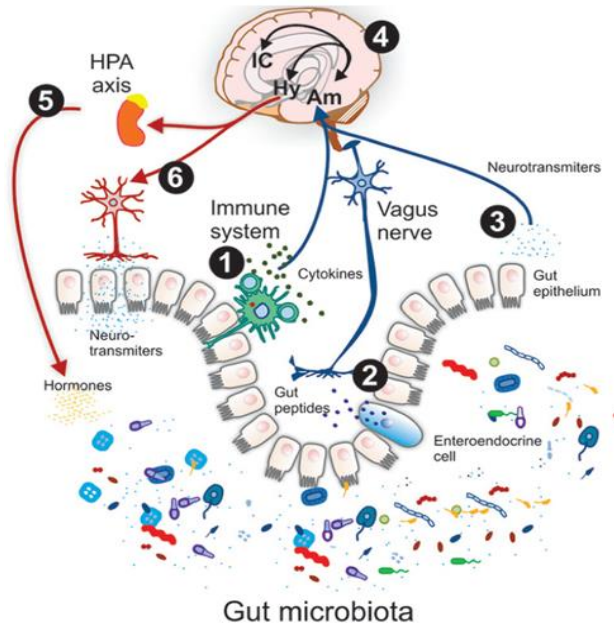
Bağırsak mikrobiyotası ayrıca, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus paracasei* ve *Bacillus clausii* gibi osteoklast-osteoblast aracılı kemik yeniden şekillenme

süreçlerinin önemli bir bağışıklık düzenleyicisi olarak da işlev görmektedir (Yan ve ark., 2016).

1.2.2.4 Mikrobiyota ve bağırsak-beyin eksenini

Bağırsak beyin mikrobiyota eksenini, bağırsak mikroplarının beyinle iletişim kurmasını sağlayan çift yönlü bir iletişim sistemi olarak tanımlanmaktadır ve bunun tersi de geçerli olmaktadır. Bu eksen, gastrointestinal sistem ve merkezi sinir sistemi arasında ilişki kurmaktadır. Bağırsak beyin ekseninin işlevleri, bağırsak fonksiyonlarını koordine etmek ve beynin duygusal merkezlerini, enterik refleks, bağırsak geçirgenliği, bağışıklık aktivasyonu ve enteroendokrin sinyalleme gibi periferik bağırsak işlevleri ve mekanizmaları ile bağlamaktır.

Bağırsak mikrobiyotasının beyin üzerindeki etkilerini uyguladığı mekanizmalar kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen dairesel KZYA'lar, sıkı bağlantı proteinlerinin üretimini artırarak kan beyin bariyerinin (KBB) bütünlüğünü etkilemektedir. Artan KBB bütünlüğü, istenmeyen metabolitlerin beyin dokusuna girişini sınırlamaktadır. Bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen lipoprotein ve lipopolisakkarit gibi bileşikler, bağışıklık hücrelerinden sitokin salınımını uyararak otoimmün fonksiyonu etkilemektedir. Bu sitokinler KBB'yi geçebilmekte ve nörolojik fonksiyonu değiştiren ve ruh hali ve davranışta bir değişikliğe neden olan nöronları aktive edebilmektedir (Mohajeri ve ark., 2018).



Şekil 1.11 Bağırsak-Beyin eksenini (Montiel-Castro ve ark., 2013)

1.2.3 Bağırsak mikrobiyal kompozisyonunu etkileyen faktörler

1.2.3.1 Diyet

Diyet, yararlı ya da zararlı bir şekilde bağırsak mikrobiyotasının modülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu, bazı türlerin artması veya azalmasıyla ve ayrıca bağırsak ortamında üretilen metabolitlerin ayarlanmasıyla yapılabilmektedir. Doğumdan sonra diyet, besin maddelerinin değişen mevcudiyetine uyum sağladığı için bebek bağırsak mikrobiyotasını şekillendirmenin kritik bir itici gücü olarak nitelendirilmektedir. Bebekliğin başlarında, bağırsak mikrobiyotası, anne sütünde bulunan oligosakkaritlerin sindiriminde yer alan genlerde zenginleşirken, daha sonra katı gıdaların tanıtılması nedeniyle; metagenom, polisakkaritlerin ve vitaminlerin metabolizması ile ilişkili genlerde zenginleştirilmiştir. Ek olarak, mama yöntemi bebek mikrobiyotasındaki mikrobiyal kompozisyonu önemli ölçüde etkilemektedir. Anne sütüyle beslenen bebeklerde aşırı Actinobacteria büyümesi ve Firmicutes ve Proteobacteria inhibisyonu görülmektedir. Anne sütü, bu bakteri türleri tarafından etkili bir şekilde metabolize edilebilen ve kısa zincirli yağ asitlerinde bir artışa neden olan ve bağışıklık sistemini immünoglobulin G ekspresyonunu artırmaya yönlendiren oligosakkaritleri içermektedir. Bununla birlikte, formülle beslenen bebeklerde Clostridia, Streptokoklar, Bakteroidler ve Enterbakterilerde artış görülmektedir. Bebeklikten sonra, bağırsak mikrobiyotası gelişimine devam etmekte ve diyet, bağırsak mikrobiyotasının yapısını, şeklini ve çeşitliliğini organize etmenin ana anahtarı haline gelmektedir (Hills ve ark., 2019).

Vejetaryen diyetlerin sağlık, bağırsak mikrobiyota türlerinin çeşitliliği ve Firmicutes ve Bacteroidetes'in baskınlığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Diyet lifi tüketimi, bağırsağın mukozal bariyer fonksiyonunun bütünlüğünü korumak için gerekli olduğu saptanmıştır. Ayrıca, zengin lifli bir diyetin, T2DM hastalarında glikoz kontrolünü iyileştirdiği ve daha sağlıklı bir metabolik profili desteklediği gösterilmiştir. Öte yandan, genellikle Avrupa'da yaygın olan protein ve yağlardan zengin diyet, Bacteroides, Bilophila ve Alistipes gibi safraya toleranslı türlerin bolluğu ve Firmicutes'in baskılanması ile ilişkilendirilmiştir. Bu tür diyetlerin tüketimindeki artışın bağışıklığın azalmasına, enfeksiyona yatkınlığın artmasına ve metabolik hastalıkların gelişmesine neden olduğunu belirtilmektedir (Ray, 2018).

1.2.3.2 Yaş

Konağın yaşı, mikrobiyota bileşimini önemli ölçüde etkilemektedir. Mikrobiyota kolonizasyonu, doğum yoluna (vajinal veya sezaryen) bağlı olarak değişmektedir. Daha kapsamlı mikrobiyota kolonizasyonu doğumdan hemen sonra ortaya çıkmakta, bağırsaklarda görülen ilk bakteriler Proteobacteria gibi aerobik suşlardır. Bu bakteriler oksijen konsantrasyonunu azaltmakta ve Firmicutes, Actinobacteria ve Bacteroides gibi anaerobik suşların kolonizasyonuna izin vermektedir.

Bağırsak mikrobiyotasının oluşumu ve gelişiminin en önemli dönemi ilk yaş olmaktadır. Taksonomik çeşitlilik doğumda nispeten düşüktür ancak zamanla artmaktadır. Yaşlı insanlarda, Bifidobakterilerde ve Bacteroides'te ve ayrıca amilolitik aktivitede ve KZYA'ların üretiminde önemli bir azalma görülmektedir. Ayrıca fakültatif anaerob, fusobakteri, clostridia ve öbakteri sayılarının arttığı ancak bifidobakterilerin azaldığı doğrulanmıştır.

Çocuklukta (2-5 yaş), bağırsak mikrobiyota bileşimi, bütirat üretme kapasitesine sahip olanlar da dahil olmak üzere birden fazla Firmicutes ve Bacteroidetes üyesi ile daha stabil hale gelmektedir. Ergenlik öncesi bağırsak mikrobiyotasının (7-12 yaş), folat ve vitamin B12 sentezi gibi potansiyel olarak devam eden gelişime dahil olan işlevlerde de zenginleştiği bulunmuştur. Adolesan mikrobiyotası (11-18 yaş) ile ilgili olarak, Clostridium ve Bifidobacterium cinslerinin bolluğu ergenlerde yetişkinlere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sağlıklı yetişkin bağırsak mikrobiyotasına Firmicutes ve Bacteroidetes hakimdir, ancak aynı zamanda daha küçük oranlarda Verrucomicrobia, Actinobacteria ve Proteobacteria içermektedir.

Yaşlanma, yaşlı mikrobiyotasının (> 65 yaş) bileşimini ve işlevini önemli ölçüde etkilemektedir. Yaşlanma süreciyle birlikte beslenme alışkanlıklarında meydana gelen değişiklikler, çeşitli yaşam tarzı ve fizyolojik değişikliklerle ilişkili olabilmektedir. Bu değişiklikler arasında diş ve tükürük fonksiyonunda azalma, sindirim ve emilimde azalma ile ilaçlar ve psikolojik durum sonucunda iştahta meydana gelen değişiklikler yer almaktadır. Genel olarak, yaşlı mikrobiyota, mikrobiyal çeşitlilikte bir düşüş, fırsatçı patojenlerin bolluğunda bir artış ve KZYA üreten türlerde bir azalma ile karakterize edilmiştir.

Genel olarak, yaşlıların bağırsak mikrobiyotası, yetişkinlere kıyasla daha düşük bir Bacteroidetes / Firmicutes oranı ve Enterobacteriaceae bolluğu sergilemektedir. Bu

mikrobiyal değişikliklerin nedenleri, diyet çeşitliliğinin azalması ve inflamatuvar faktörlerin artması ile ilişkili olabilmektedir (Del Chierico ve ark., 2015).

1.2.3.3 Konak genetiği

Konak genetiğinin tür zenginliğini ve bireysel taksonların bolluğunu etkilediği ve ayrıca patojen duyarlılığındaki varyasyona katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir. Mikrobiyom ve konağın doğuştan gelen bağışıklığı ile ilişkili genler arasında çeşitli ilişkiler bulunmaktadır: örüntü tanıma reseptörleri bağışaklardaki mikroorganizmaları algılamaktadır ve bu nedenle mikrobiyom bileşimini ve mikrobiyomla ilişkili hastalığı modüle etmektedir.

Yapılan alışmalar, monozigotik ikizlerden ilişkisiz bireylere kadar farklı derecelerde genetik akrabalığa sahip bireylerin dışkı mikrobiyotasını incelemiştir. Yıllarca ayrı yaşayan monozigotik ikizler, mikrobiyal profillerinde yüksek benzerlikler gösterirken, aynı ortamda ve benzer beslenme alışkanlıklarına sahip evli eşler göstermemiştir. Ayrıca, phyla Firmicutes, Actinobacteria, Tenericutes ve Euryarchaeota'nın daha kalıtsal olduğu gösterilirken, oldukça bol Bacteroidetes filumunun çok az kalıtsallık gösterdiğini bildirmektedir. Birlikte ele alındığında, bu bulgular, genetik faktörlerin bağışak mikrobiyotasını şekillendirmede güçlü bir güç sağladığını kuvvetle savunmaktadır.

Yapılan çalışmalarda, konak genetiğinin bağışak mikrobiyomuna önemli ölçüde katkıda bulunduğuna dair daha fazla kanıt sağlamıştır. Domuz, insan ve fare arasındaki kalıtsal taksonların yüksek benzerliğini ve aday genlerin fonksiyonel kategorilerini doğrulamışlardır, bu da memeli türleri arasında bağışak mikrobiyomu üzerindeki konakçı genetik etkisinin benzer mekanizmasını önermektedir (Iebba ve ark., 2016).

1.2.3.4 Egzersiz yapmak

İnsanlarda, birkaç çalışma, egzersizin bağışak mikroflorasının çeşitliliğini zenginleştirdiğini ve protein alımı ve kreatin kinaz seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini göstermiştir. Egzersiz mikrobiyota çeşitliliğinde artışa neden olmaktadır. Sporcular, sporcu olmayanlara göre daha düşük Bacteroidetes seviyeleri ve daha fazla Firmicutes göstermektedirler. Egzersize yanıt olarak rapor edilen bakteri taksonları Lactobacillus, Bifidobacterium ve Akkermansia iken, Proteobacteria, Turicibacter ve Rikenellaceae gibi diğer cinsler azaldığı saptanmıştır. Ek olarak, KZYA üretimi (bağışak sağlığının bir göstergesi) ve Clostridiales gibi bütirat üreten taksonlar,

Roseburia, Lachnospiraceae ve Erysipelotrichaceae'nin egzersize yanıt olarak arttığı ve egzersizin konakçı bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerine aracılık etmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.

Genel olarak, egzersizin zengin bir bakteri topluluğunu geliştirdiği mekanizmalar hem iç hem de dış faktörleri içermektedir. Atletik bireyler çevresel biyosferlerine maruz kalmaktadırlar ve daha zengin bir mikrobiyotayı teşvik eden genel sağlıklı yaşam tarzlarını takip etmektedirler. Ayrıca, azalmış kan akışı, doku hipoksisi ve artan geçiş gibi dayanıklılık antrenmanına içsel adaptasyonlar, GI yolunda değişikliklere yol açabilmektedir.

Sporcuların kontrollere göre daha düşük inflamatuvar ve gelişmiş metabolik belirteçler gösterdiği ve egzersizin daha düşük kronik inflamasyon nedeniyle morbiditeyi azalttığı bildirilmiştir. Küçük çocuklarda nöral devreler tam gelişme halinde olduğundan, egzersiz beyni yaşamın sonraki dönemlerinde depresyon ve anksiyete gibi stres kaynaklı psikiyatrik bozukluklara karşı koruyabilmektedir. Ayrıca, egzersizin obezite ve diğer bazı gastrointestinal hastalıklar gibi disbiyoz ile ilişkili hastalıkların tedavisinde terapötik bir destek olarak kullanılabileceğini öne sürülmüştür (S. F. Clarke ve ark., 2014).

1.2.3.5 Antibiyotikler

Antibiyotiklerin kullanımı iki uçlu bir silahtır: Hem patojenik hem de faydalı mikropları yok ederek disbiyoz adı verilen bağırsak mikrobiyotasının bozulmasına neden olmaktadır. Antibiyotikler, mikrobiyotanın patojenleri inhibe ettiği rekabetçi dışlama mekanizmasını bozmaktadır.

Antibiyotik uygulamasının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki spesifik etkileri, antibiyotik türüne ve dozlama uzunluğuna bağlı değişmektedir. Örneğin, iki yıl boyunca klindamisin verilmesi, Bacteroides çeşidinde geri kazanım olmaksızın bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere neden olmaktadır. Ayrıca Helicobacter pylori tedavisinde klaritromisin kullanımı aktinobakteri sayısında azalmaya neden olurken, siprofloksasinin tedaviden yarım yıl sonra düzelmeyen Ruminokoklarda azalmaya neden olduğu ortaya çıkmıştır. Vankomisin tedavisi Bacteroidetes, Fuminococcus ve Faecalibacterium'da azalmaya neden olurken, Proteobacteria türlerinde artışa neden olmaktadır (Dethlefsen ve Relman, 2011).

1.2.3.6 Sigara kullanımı

Sigara içmek, gastrointestinal mikrobiyota kompozisyonunu etkileyen başka bir faktör olmaktadır. Firmicutes ve Actinobacteria bolluğunda göreceli bir artış ve Bacteroidetes ve Proteobacteria'da bir azalma dahil, sigarayı bırakan sağlıklı bireylerin dışkı mikrobiyotasında da önemli değişiklikler gözlenmektedir. Ayrıca araştırmalar, sigara içenler ve içmeyen kişiler arasında oral bağırsak mikrobiyotasında önemli farklılıkları doğrulamıştır. Özellikle sigara içenlerin ağız boşluğunda Porphyromonas ve Neisseria türlerinin yayılımında artış, Gemella'da ise azalma saptanmıştır. Öte yandan, sigara içmeyenlerle içenlerin akciğerlerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Biedermann ve ark., 2013).

1.2.3.7 Coğrafi etkiler

İnsan bağırsağı mikrobiyotasının her filumunun oranı, jeolojik konuma göre değişmektedir. Bu bölgeler atmosfer, genetik, beslenme ve farklı yaşam tarzlarına bağlı diğer faktörlere dayanmaktadır. Çalışmalar, Firmicutes'ün sanayileşmemiş ülkelerdeki yetişkinlerde iyileştğini gösterirken, Batılı ülkelerdekilerin Bacteroidetes'in Firmicutes'e oranının daha yüksek olduğu görülmektedir (Schnorr ve ark., 2014).

1.2.4 Bağırsak mikrobiyotasının hastalıklarla ilişkisi

İnsan vücudu ve mikrobiyomu arasında, bozulması her ikisi üzerinde de zararlı etkilere neden olabilecek karmaşık bir simbiyoz bulunmaktadır. Ortaya çıkan disbiyoz (mikrobik bileşimin değişmesi) olumsuz olabilmekte ve aşağıdaki çeşitli hastalıkların gelişimi ile bağlantılı olabilmektedir.

Farklı bireyler arasındaki mikrobiyal popülasyon çeşitliliğinin karşılaştırılması, onların farklı patolojik durumlarla ilişkisinin belirlenmesine yol açmıştır. Bu tür birçok çalışma, bir dizi mikrobiyal türün varlığı/yokluğu ile hastalık arasındaki ilişkileri tanımlamaktadır ve ayrıca, disbiyoz ile çeşitli patolojik durumların etiyolojisi arasında bağlantı kuran hipotezin oluşturulmasına yardımcı olmaktadır.

1.2.4.1 Gastrointestinal ve karaciğer hastalıkları

1.2.4.1.1 İrritabl bağırsak sendromu (IBS)

İrritabl bağırsak sendromu (IBS), karın ağrısı, gaz ve bağırsak alışkanlıklarının değişmesi gibi bazı semptomlarla tanımlanan fonksiyonel bir hastalıktır. Artan fermentasyon ve gaz üretimi, sendrom semptomlarının ortaya çıkmasına neden

olabilmektedir. IBS'de KZYA'ların konsantrasyonlarının arttığı ve bağırsak geçişinde artışa neden olan bağırsak mukozasından serotonin salınımını artırabildikleri bildirilmiştir. IBS kritik bir hastalık olmasada, insanların yaklaşık %10-15'i, enfekte bireylerin yaşam kalitesini düşüren bu hastalıktan muzdarip olduğu saptanmıştır. Tüm bu bağırsak bozuklukları, bağırsak-beyin eksenini olarak adlandırılan bağırsak ve beyin arasındaki bağlantıyla ilişkilendirilmektedir.

IBS patofizyolojisinde bağırsak mikrobiyotasının katılımını destekleyen büyük kanıtlar bulunmaktadır. IBS ile bağırsak mikrobiyotasında kalitatif ve kantitatif değişiklikler gözlenmektedir. Ayrıca, bağırsaktaki mikrobiyal disbiyozun, patojenik mikropların bağırsak duvarına bağlanmasını teşvik ederek IBS patogeneğinde yer aldığı düşünülmektedir. Çalışmalar, sağlıklı insanlara kıyasla IBS hastalarında Firmicutes özellikle Clostridium, Ruminococcus ve Dorea'da bir artış ve Ruminococcus albus, Bacteroides fragilis, B. vulgates ve R. callidus'ta bir azalma olduğunu doğrulamaktadır (Kadooka ve ark., 2010).

1.2.4.1.2 İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH)

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH), sindirim sistemini etkileyen heterojen bir kronik immün aracılı inflamatuvar hastalık grubu olarak kabul edilmektedir. IBH, hem genetik hem de çevresel faktörlerden (stres, uyku düzeni, antibiyotik kullanımı, hijyen, diyet ve sigara) ortaya çıkan ve konakçı genomunun potansiyel olarak bağırsak mikrobiyota bileşiminde kritik bir role sahip olduğu bir hastalık olmaktadır. İki önemli tip bulunmaktadır: Ülseratif kolit (UK) ve Crohn hastalığı (CH).

CH, tüm bağırsak yolunu etkileyebilmektedir ve bağırsağın farklı bölümlerinin süreksiz tutulumu ile karakterize edilirken, UK kolon ve rektum ile sınırlıdır ve kalın bağırsağın sürekli iltihaplanması ile karakterize edilmektedir. Çeşitli araştırmalar, IBH'ye duyarlı bireylerde diyetler ve mikroorganizmalar arasında doğrudan bir ilişki olduğunu doğrulamıştır. Öte yandan, sebze ve meyvelerden zengin bir beslenme, daha fazla KZYA'ya neden olmaktadır ve CH geliştirme tehlikesini azaltmaktadır.

IBH hastalarının sindirim sisteminde bozulmuş bir mukus tabakasına sahip olduğu ve dolayısıyla lümen mikroflorasının intraepitelyal hücrelere nüfuz etmesine izin verdiği ve proliferatif ve inflamatuvar süreçlere neden olduğu düşünülmektedir. IBH esas olarak, Bacteroidetes ve Firmicutes gibi bazı türlerde bir azalma ile birlikte bağırsak disbiyozu ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Ek olarak, CH ve UK'li hastalarda daha

düşük bir *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Roseburia* bolluğu kaydedilmiştir. Ayrıca CH'li hastalarda *Proteobacteria*, *Neisseriaceae* *corrodens*, *Pasteurellaceae*, *Veillonella parvula* ve *E. coli*'de bir artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *Cyberlindnera jadinii*, *Calvispora lusitaniae*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces marxianus* gibi CH hastalarında maya ve mantar taksonları artmış olduğu saptanmıştır (Schirmer ve ark., 2018).

1.2.4.1.3 Karaciğer hastalığı

Yağlı karaciğer hastalıkları obezite, alkol ve metabolik sendrom ile ilişkilendirilmiştir. Bağırsak mikrobiyotası ile birlikte yaşam tarzı ve diyet bu hastalığın görünümüne dâhil edilmiştir. Alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), hepatositlerde esas olarak trigliseritler olarak yağ birikimi ile tanımlanmaktadır. Karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinoma ilerleyebilmektedir. NAYKH'nin temel patogenezini net değildir; ancak bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin, gelişimine önemli bir katkıda bulunduğu inanılmaktadır. Bazı araştırmalar, düşük Firmicutes ve Bacteroides düzeylerini, ancak karaciğer yağlanması hastalıklarının ortaya çıkmasıyla birlikte önemli düzeyde *E.coli* rapor etmektedir.

NAYKH patogenezini birkaç mekanizma tetikleyebilir. Daha yüksek miktarda KZYA ve Bacteroidetes / Firmicutes oranındaki azalma, karaciğerde glukoneogenez ve lipogenez başlatan daha yüksek bir enerji hasadına yol açmaktadır. Ek olarak, disbiyoz, bütirat oluşumunu azaltarak lipoprotein lipazın aktivasyonuna ve ardından karaciğerde trigliserit birikimine yol açmaktadır.

Etanol, intestinal penetrasyon kabiliyetini ve lipopolisakkaritin (LPS) giriş seviyelerini artırarak karaciğer hasarına katılabilmektedir. Başka bir mekanizma, kolinin bağırsak mikrobiyotası tarafından toksik metilaminlere katalizidir. Bu zararlı metabolitlerin hepatik olarak alınması inflamasyonun artmasına neden olmaktadır. Artan alkol alımı, bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olan Gram-negatif bakterilerin aşırı büyümesine yol açmaktadır, bu da bakteriyel metabolitlerin karaciğere ve LPS ve bakteriyel toksinler gibi proinflamatuvar moleküllerin mevcudiyetinin artmasına neden olmaktadır (Betrapally ve ark., 2016).

1.2.4.2 Metabolik hastalıklar

1.2.4.2.1 Obezite

Obezite, aşırı yağ dokusunun birikmesinden kaynaklanan 30 kg/m²'nin üzerindeki vücut kitle indeksi (VKİ) olarak tanımlanmaktadır. Obezite, topluca metabolik sendrom olarak kabul edilen diğer metabolik anormalliklere yol açan yaygın olarak görülen bir hastalıktır (yaklaşık 2 milyar kişi aşırı kilolu). Bu metabolik anormalliklerin göstergeleri insülin direnci ve diyabet, osteoartrit, hiperlipidemi, karaciğer yağlanması ve kanser olmaktadır.

Genetik, davranışsal ve çevresel faktörler gibi birçok faktör obeziteye neden olmaktadır. Ayrıca bağırsak mikrobiyotası, obezitenin oluşmasında ve gelişmesinde hayati bir rol oynamaktadır. Obez bireylerden elde edilen mikrobiyota, fermantasyon sürecinde artan bir kapasiteye sahiptir ve diyetten enerji toplamaktadır. Obez kişilerde yüksek oranda Firmicutes to Bacteroides/Prevotella polisakkaritin bozunmasıyla ilgili mikrobiyal genleri geliştirmektedir ve KZYA'ların seviyesini yükseltmektedir. Bu, karbonhidrat metabolizmasından ve KZYA'ların üretiminden sorumlu enzim kodlayan genlerin ekspresyonunun artmasıyla sonuçlanmaktadır. Ek olarak, obez bireylerin zayıf insanlara göre Porphyromonas, Campylobacter, Bacteroides, Staphylococcus, Parabacteroides, Dialister ve Ruminococcus bazılarının bolluğu ile karakterize olduğu bildirilmiştir. Öte yandan Lactobacillus, Bifidobacterium, Faecalibacterium, Akkermansia, Methanobrevibacter ve Coprococcus'un düşük oranda olduğu kaydedilmiştir (Villanueva-Millán ve ark., 2015).

1.2.4.2.2 Diyabet

Tip 1 diyabet, bağışıklık sistemi yıkımı nedeniyle insülin üreten pankreatik β - hücrelerinin eksikliği olarak tanımlanmaktadır. Tipik olarak, tip 1 diyabet yaşamın erken döneminde ortaya çıkmaktadır, daha sonra bağırsak mikrobiyal organizasyonu şekillenmektedir, bu da bağışıklık sisteminin organizasyonunda hayati bir role sahip olduklarını düşündürmektedir. Bağışıklık sisteminin bağırsak mikrobiyotası ile etkileşiminin, tip 1 diyabet geliştirmeye yatkınlığı değiştirdiği gösterilmiştir. Tip 1 diyabetli kişilerde bağırsak mikrobiyotası, yüksek düzeyde Bacteroidetes, laktat ve bütirat üreten bakteri gölü ve azalmış bakteri fonksiyonel çeşitliliği ile tanımlanmaktadır.

Tip 2 diyabet, vücudun yeterli insülin üretmediği veya insülin üretimine rağmen glikozu etkili bir şekilde metabolize edemediği kronik bir metabolik bozukluk olarak tanımlanmaktadır. Düşük seviyede insülin reseptörü ve/veya insülin direnci ile karakterize edilmektedir. Hem konak genotipi hem de yaşam tarzı faktörleri, bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu ve dolayısıyla tip 2 diyabet tehlikesini etkileyebilmektedir. Diyabetli kişilerin bağırsak mikrobiyotası, sağlıklı bireylere kıyasla Proteobacteria, Bacteroidetes ve Firmicutes gibi bazı filumların daha yüksek oranda yayıldığını göstermektedir.

Gram negatif bakterilerin dış zarlarından ekstrakte edilen lipopolisakkaritlerin, proinflamatuvar sitokinlerin atılımını teşvik ederek metabolik endotoksemiye arttırdığı bilindiği varsayılabilmektedir. Birkaç çalışma, yüksek yağlı bir diyetin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebileceğini ve dolaşımdaki LPS seviyelerini artırabileceğini göstermektedir.

Ek olarak, bağırsak mikrobiyotası, KZYA'ların üretimi yoluyla polisakkaritleri ve enerji metabolizmasını etkilemektedir. Bütirat, insülin direncini tetiklediği görülen bağırsak mikrobiyotasından türetilen endotoksik bileşiklerin translokasyonunu bloke ederek insülin duyarlılığı üzerinde faydalı bir etkiye sahip gibi görünürken, KZYA'lar esas olarak karaciğerde lipogenez ve glukoneogenez için substratlar olarak işlev görmektedir (Clemente ve ark., 2012).

1.2.4.3 Kardiyovasküler hastalıklar

Kardiyovasküler hastalığın (KVH) ilerlemesine yol açan geleneksel risk faktörleri, esas olarak obezite ve tip 2 diyabet olduğu saptanmıştır. Ayrıca, Batı diyetinin ana bölümünü temsil eden diyet kolin ve karnitin mikrobiyal sindirimine kardiyovasküler hastalık tehlikesini arttırdığı görülmüştür. Bu bileşiklerin metabolizması, karaciğerde ateroskleroz gelişimi ile ilişkili bir amin oksit olan trimetilamin-N-oksidi (TMAO) oksitlenen trimetilamin (TMA) üretmektedir. TMAO ayrıca karaciğerdeki safra asidi metabolizmasını, safra asidi sentetik enzimlerinin ve kolesterol taşıyıcılarının baskılanması dahil olmak üzere farklı seviyelerde etkilemektedir.

Ateroskleroz hastalarının gut mikrobiyotası, bütirat üreten Eubacterium ve Roseburia bolluğunun azalması ile karakterize edilmektedir. Bununla birlikte, CVD hastalarından alınanlar, peptidoglikan sentezini kodlayan genler açısından zengindir ve

proinflamatuvar bir duruma katkıda bulunan fitoen dehidrojenaz açısından tükenmektedir (Estruch ve ark., 2018).

1.2.4.4 Bağışıklık ile ilgili hastalıklar

Yaygın alerjik hastalıkların çoğu alerjik rhino konjunktiviti, alerjik rhino konjunktiviti, atopik egzama ve astımdır. Sadece genetik ve çevresel ajanların alerjik hastalığın gelişimini değil, aynı zamanda bağırsak mikrobiyotasının disbiyozunu da etkilediği bildirilmektedir.

Bağışıklık sisteminin kurulmasına yardımcı olan Bacteroidetes ve diğer butirat üreten bakteriler, erken bebeklik döneminde yoğunluklarında önemli bir azalma göstermektedir. Çocukluk çağında alerjik semptomların başlangıcında, bağırsak mikrobiyotası genel olarak daha düşük bakteri prevalansı, özellikle Staphylococcus aureus, Faecalibacterium prausnitzii ve Clostridium, ancak daha yüksek bir Bifidobacterium adolesan bolluğu sergilemektedir. Astımda, yetersiz bağışıklık düzenlemesi ve/veya zayıf hava yolu epiteli, alerjik hava yolu hastalığına neden olmaktadır. Bağışıklık hücreleri tarafından üretilen epitelyal mukus ve antimikrobiyal peptitler, çevresel ajanlara yanıtta önemli bir rol oynamaktadır.

Astım riski taşıyan bebeklerde Faecalibacterium, Akkermansia ve Lachnospira gibi çeşitli bakteri taksonlarını kapsayan bağımsız, coğrafi olarak farklı doğum kohortlarından gözlemlenmektedir. Yapılan gözlemler, akciğer epitel hücreleri tarafından eksprese edilen A₂₀ adlı bir faktörün koruyucu etkisini doğrulamaktadır. Astımlı hastalar, epitel hücrelerinde A₂₀ seviyesinin azaldığını göstermiştir, bu da LPS'nin indüksiyon yetmezliği nedeniyle hastaların alerjik astıma duyarlılığını arttırdığı saptanmıştır. Bu gözlemler, bağırsak mikrobiyotasının çocuklukta astım gelişimi tehlikesine katkıda bulunduğuna dair büyük kanıtları doğrulamaktadır ve böylece “bağırsak-akciğer eksenini” kavramını netleştirmektedir (Vuitton ve Dalphin, 2017).

1.2.4.5 Onkolojik hastalıklar

Hiç şüphesiz ki kanser hastalığı tüm dünyada mortalite ve morbiditenin ana nedenlerinden biridir. Bacteroides fragilis, Enterococcus faecalis ve Helicobacter hepaticus gibi belirli bakteriler, DNA'ya büyük zarar veren bileşikler üreterek karsinogenezi arttırmaktadır. Fusobacterium nucleatum gibi diğer bakteriler, kalıcı bir proinflamatuvar mikro ortamı koruyarak dolaylı olarak karsinogenezi artırabilmektedir.

Hayvansal protein ve yağ içeriği yüksek ve lif oranı düşük gıda alımı, kolon kanseri geliştirmede daha yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir. Öte yandan, sebze, meyve, balık ve tam tahıllı tahıllardan zengin diyet, azalmış risk ile ilişkilendirilmektedir. Kolorektal kansere (KRK) duyarlı bireylerde ikincil safra asitleri oluşturan daha fazla tür bulunmaktadır, ancak butirat üreten daha az tür bulunmaktadır. Kronik inflamasyonun KRK için büyük bir risk faktörü olduğu birçok çalışmada vurgulanmaktadır. Gerçekten de mikrobiyal ürünler, bariyer kusurlu kolon tümörlerine girebilmektedir, konakçının immün yanıtını inflamasyona neden olmak için kullanabilmektedir ve bunun sonucunda tümör gelişimini artırabilmektedir.

Kanser progresyonunun türlerin bir diğerine prevalansına değil, mikrobiyotanın metabolik fonksiyonlarının tüm yollarına bağlı olduğunu belirtilmektedir. Ek kanıtlar, farklı hastalık immünoterapi türlerine tepkiyi dengelemede enterik mikrobiyotanın öneminin altını çizmektedir. Anti-programlanmış hücre ölümü proteini 1 (PD1) tedavisine yanıt veren kanser hastalarının, Faecalibacterium, Bifidobacterium ve Akkermansia dahil olmak üzere genellikle sağlıklı ilişkili bakteri taksonları için sürekli olarak tüketilen yanıt vermeyenlere kıyasla daha çeşitli bağırsak mikrobiyotası barındırdığı gösterilmektedir. Bu gözlemler, bağırsak mikrobiyotasının tedaviye yanıt veren hastaları tanıma, mevcut terapötikleri iyileştirme ve yeni terapötik stratejiler oluşturma şansı sunabileceğini önermektedir (Lv ve ark., 2017).

1.2.4.6 Nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar

Bağırsak-mikrobiyota-beyin eksenini, insan ve hayvan refahı için etkili olmaktadır. Mikrobiyom-beyin-bağırsak ekseninin işlevsizliği birçok nörolojik ve psikiyatrik hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklar, anksiyete ve depresyon gibi strese bağlı bozuklukları, otizm gibi nörogelişimsel hastalıklarda ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkları içermektedir (Sherwin ve ark., 2016).

1.2.4.6.1 Anksiyete

Anksiyete, sinirsel, endokrin ve immünolojik mekanizmalar yoluyla gelişen duygusal bir durum olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik veya çevresel streslere maruz kalmak kaygı tepkilerini artırabilmektedir. Nörotransmitterler ve immünolojik faktörler gibi bağırsak-beyin sinyallerinin rolü vurgulanmaktadır.

Bağırsakta patojenik bakterilerin neden olduğu disbiyoz, immünolojik ve metabolik yollar yoluyla kaygıyı indükleyebilmektedir ve şiddetlendirebilmektedir.

Campylobacter jejuni enfeksiyonu, proinflamatuvar sitokin seviyelerini yükseltmeden, nöronal aktivasyonun belirteçleri olan c-Fos proteinlerini aktive ederek anksiyete davranışını arttırmaktadır. Aksine, probiyotikler kaygıyı iyileştirebilmektedir. Bazı Lactobacillus ve Bifidobacterium türlerinin kaygı giderici etkileri bulunmaktadır. Probiyotik tedavisi, hayvan kaygı modellerinde immünolojik faktörlerin düzeltilmesi ve GABA reseptörlerinin düzenlenmesi yoluyla davranışsal fenotipleri normalleştirdiği saptanmıştır (G. Clarke ve ark., 2013).

1.2.4.6.2 Depresyon

Depresyon, bağışıklık sisteminin düzensizliği ve triptofan metabolizmasının eksikliği ile ilişkili bir duygu durum bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Birkaç gözlemsel çalışma, depresyon ile bağırsak mikrobiyomu arasında çift yönlü bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Depresyon, iltihaplanmaya neden olan bağırsak beyin eksenini modifikasyonu ile ilgili olduğu saptanmıştır. Bağırsak geçirgenliği değiştiğinde ve bariyer bütünlüğü bozulduğunda, Enterobacteriaceae gibi bazı Gram negatif bakteriler bariyer boyunca yer değiştirmektedir ve inflamatuvar süreç aktive olmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının depresyon gelişiminde nedensel bir rol oynayabileceğini doğrulamaktadır. Depresif hastalardan mikrobiyotası tükenmiş sıçanlara fekal mikrobiyota nakli, triptofan metabolizmasını değiştirerek alıcı hayvanlarda anhedoni ve anksiyete benzeri davranışlara yol açmaktadır (Kelly ve ark., 2015).

1.2.4.6.3 Otistik spektrum bozukluğu

Otistik spektrum bozukluğu (OSB), iletişimle ilişkili sosyal etkileşimlerdeki değişikliklerin yanı sıra davranışsal bozulma ile karakterize nörogelişimsel bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır. OSB'nin, bağırsak bariyer işlevine zarar veren işlevsiz bir bağırsakla ilişkili olduğu bulunmuştur. 18 otizmlili çocukta mikrobiyota transfer tedavisi sonrası gastrointestinal semptomlarda ve nörolojik semptomlarda olumlu değişiklikler gözlemlendiğini ortaya koymaktadır.

OSB'nin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi, OSB'nin başlangıcında Clostridium'un nörotoksik etkilerinin rol oynadığına dair bir hipotezle başlamaktadır. Mikrobiyotanın OSB bireyleri ile analizi, onların sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük Firmicutes ve Bifidobacteria bolluğu daha yüksek

miktarda Proteobacteria ve Bacteroidetes ve Bacteroidetes'e sahip olduklarını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar, ASD'den muzdarip insanların bağırsak mikrobiyotasının, Bacteroidetes'in göreceli bolluğunu azaltarak bu deneklerde Firmicutes / Bacteroidetes oranında önemli bir artış olduğunu doğrulamaktadır. Cins düzeyinde, ASD kohortunda Alistipes, Bilophila, Dialister, Parabacteroides ve Veillonella'nın nispi bolluğu azalırken, Collinsella, Corynebacterium, Dorea ve Lactobacillus seviyeleri önemli ölçüde artmaktadır.

1.2.4.6.4 Alzheimer hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), dünyadaki demansın ana kaynağı olan merkezi sinir sistemini (MSS) etkileyen ilerleyici, dejeneratif ve engelleyici bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. AH'nin semptomları, esas olarak hipokampus serebral korteksinde ve beyin düşünce sürecini ve hafızayı düzenleyen diğer çeşitli alanlarında nöronal hücre ölümüne bağlı ilerleyici kolinerjik fonksiyon kaybından kaynaklanmaktadır.

Çeşitli çalışmalar, Alzheimer hastalığının patogenezinde bağırsak mikrobiyotasının önemini doğrulamaktadır. Çift yönlü iletişim sistemi ve bağırsak-beyin ekseninin mikrobiyotası bu hastalığın görünümüne dahil olmaktadır. Disbiyoz, bağırsak ve kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini arttırmaktadır. Bağırsak mikrobiyotası ayrıca Alzheimer hastalığı ile ilişkili birçok LPS, amiloid ve inflamatuvar sitokin üretmektedir. AH'li farelerin bağırsak mikrobiyotası, sağlıklı olanlara kıyasla daha yüksek Bacteroidetes ve Firmicutes prevalansı, ancak daha düşük Akkermansia ve Allobaculum cinsi seviyesi sergilemektedir (Rosenfeld, 2015)

1.3 Disbiyoz

Disbiyoz (aynı zamanda dysbacteriosis olarak da adlandırılmaktadır), mikrofloradaki bir dengesizliğin, fonksiyonel kompozisyonundaki ve metabolik aktivitelerindeki değişikliklerin veya lokal dağılımlarındaki bir değişikliğin neden olduğu bağırsak mikrobiyota homeostazında bir bozulma olarak karakterize edilmektedir. Bozulmuş bir mikrobiyota gibi vücut üzerinde veya içinde bir mikrobiyal dengesizlik veya uyumsuzluk için kullanılan bir terimdir. Örneğin, deri florası, bağırsak florası veya vajinal flora gibi insan mikrobiyotasının bir kısmı, normalde baskın türlerin yeterince temsil edilmemesi ve normalde rekabetin olmaması veya boşluğu doldurmak için artan türlerin içermesi ile düzensiz hale gelebilmektedir. Disbiyoz en yaygın olarak

gastrointestinal sistemde, özellikle ince bağırsakta aşırı bakteri üremesi (SIBO) veya ince bağırsakta aşırı mantar büyümesi (SIFO) sırasında bir durum olarak rapor edilmektedir (Tamboli ve ark., 2004).

Vücutta veya vücutta bulunan tipik mikrobiyal koloniler normalde iyi huylu veya faydalıdır. Bu faydalı ve uygun boyuttaki mikrobiyal koloniler, sindirime yardımcı olmak gibi bir dizi yararlı ve gerekli işlevi yerine getirmektedir. Ayrıca vücudu patojenik mikropların nüfuzundan korumaya yardımcı olmaktadır. Bu faydalı mikrobiyal koloniler, alan ve kaynaklar için birbirleriyle rekabet etmektedir (Xuan ve ark., 2014).

1.3.1 Nedenleri

Disbiyoz, antibiyotik veya küf maruziyeti, alkol kötüye kullanımı, veya uygun olmayan diyet gibi çeşitli şeylerden kaynaklanabilmektedir. Bunların çoğu, IBH, ülseratif kolit, alerjiler ve daha fazlası gibi çeşitli hastalıklarla bağlantılı olan ağız boşluğu ve bağırsak florası gibi insan vücudunda kesintilere yol açabilmektedir (Tomasello ve ark., 2016).

1.3.1.1 Bağırsak

İnsan bağırsağındaki bakteriler, insan vücudunda en çeşitli olanlardır ve insan sağlığında hayati bir rol oynamaktadırlar. Tüketicinin beslenme alışkanlıkları, bağırsak mikrobiyotası üzerinde en etkili faktörlerden biri olabilmektedir. Yüksek karbonhidratlı ve rafine şekerli diyetler, bağırsaktaki disbiyozun ortak bağlantılarıdır, oysa meyve, sebze ve balık yağı bakımından zengin besinler, anti-inflamatuar özelliklerinden dolayı bağırsak için daha elverişli kabul edilmektedir. IBH, Tip 2 Diyabet, Crohn hastalığı ve hatta alerjiler gibi birçok hastalığın kısmen bağırsak mikrobiyomunda meydana gelen bir değişikliğe bağlı olduğu ileri sürülmektedir (Carding ve ark., 2015).

1.3.1.2 Oral

Disbiyoz, insan vücudunun farklı bölümlerine ayrılabilir. Ağız boşluğu bir istisna değildir. Ağıza giren şey, bu sürece dahil olan mikroplara ilk maruz kalmalardan biridir ve ayrıca bağırsak ve bağırsaklarda olduğu gibi diğer mikrobiyal rahatsızlıklara da yol açabilmektedir. Ağız boşluğundaki kesintili mikrobiyal toplulukla bağlantılı diş eti iltihabı, diş çürüğü, boşluklar vb. gibi ağız hastalıklarının önlenmesinde hijyen ve beslenme çeşitliliği zorunludur. Oral patojenler, vücudun çoklu mikrobiyota bölümleri boyunca disbiyotik işlevleri tetikleyebilmekte ve immünolojik

veya sindirim kesintileri gibi sistemik süreçleri değiştirebilmektedir. Sigara içmek, içki içmek, oral ilişki, tükürük bezleri ve yaş, oral disbiyozu yol açabilecek kaynaklarla bağlantılı olarak kabul edilmektedir (Chimenos-Küstner ve ark., 2017).

1.3.1.3 Antibiyotikler

Disbiyoz yaşamın birçok aşamasında ortaya çıkabilmekte ve birçok farklı kaynak tarafından tetiklenebilmekte, örneğin antibiyotikler, mikrobiyotalardaki bozulmalara önemli bir katkıda bulunmaktadır. Küçük çocukluk gelişimi sırasında antibiyotik kullanımı, yetişkinlikte olumsuz bağırsak sorunlarına (disbiyoz) yol açabilmektedir. Bağırsak mikrobiyomu antibiyotiklerden değiştirilmekte ve gelecekteki bağırsak hastalıklarıyla, yani IBH, ülseratif kolit, obezite vb. ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Bağırsak bağışıklık sistemi bağırsak mikrobiyomundan doğrudan etkilenir ve antibiyotikler yoluyla hasar görürse iyileşmesi zor olabilir (Vangay ve ark., 2015).

1.3.2 Etkileri

Bağırsak disbiyozu “hem bağırsak hem de bağırsak dışı bozuklukların patogenezi” ile ilişkilendirilmiştir. Bağırsak bozuklukları arasında IBH, IBS ve çölyak hastalığı bulunmaktadır ve bağırsak dışı durumlarda alerji, astım, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık ve obezite bulunmaktadır. Disbiyoz, otoimmün hastalıklarda, alerjilerde ve metabolik bozukluklarda rol oynamaktadır (Carding ve ark., 2015).

Bağırsak disbiyozu, yaşa bağlı disbiyoz ile çok çeşitli yaşa bağlı patolojiler için ortak faktör olan inflamasyona bağlı nörolojik gerileme arasındaki bağlantı nedeniyle nörodejeneratif ve serebrovasküler hastalıklarda da bir faktör olabilmektedir. Yaşlı hastalarda disbiyozun düzeltilmesi ile nörodejeneratif hastalıkların gelişmesini önlemek mümkün olabilmektedir. Disbiyoz, “otizm, ağrı, depresyon, anksiyete ve felç” dahil olmak üzere nörolojik durumların nedenine veya gelişimine katkıda bulunabilmektedir. Nörolojik koşullara katkıda bulunan disbiyoz, bağırsak mikrobiyomunun nöral gelişimi, bilişi ve davranışı etkilemesine izin veren bağırsak-beyin eksenini ile etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Davranıştaki değişiklikler nedeniyle bağırsak mikrobiyota bileşiminin değişebileceğine ve mikrobiyomun değiştirilmesinin de depresif davranışlara neden olabileceğine dair kanıtlar da bulunmaktadır (Rogers ve ark., 2016).

Bu denge bozulduğunda, bu koloniler birbirlerinin büyümesini kontrol etme yeteneğinde azalma sergilemektedir ve bu da daha sonra bozulan bir veya daha fazla

koloninin aşırı büyümesine yol açabilmekte ve bu da bir kısır döngüde diğer küçük faydalı kolonilerden bazılarını daha fazla zarar verebilmektedir. Daha faydalı koloniler zarar gördüğünden, dengesizlik daha belirgin hale gelmekte, daha fazla aşırı büyüme sorunları meydana gelmektedir çünkü hasarlı koloniler aşırı büyüyenlerin büyümesini daha az kontrol edebilmektedir. Bu yeterince uzun süre kontrol edilmezse, koloniler arasında yaygın ve kronik bir dengesizlik ortaya çıkacak ve bu da bir bütün olarak bu kolonilerin faydalı doğasını en aza indirecektir.

Mikrobiyal koloniler ayrıca birçok farklı türde atık yan ürün salgılar. Farklı atık giderme mekanizmalarını kullanarak, normal şartlar altında vücut bu yan ürünleri çok az sorunla veya hiç sorun yaşamadan etkin bir şekilde yönetmektedir. Ne yazık ki, büyük ve uygun olmayan şekilde büyük koloniler, artan sayıları nedeniyle, bu yan ürünlerin artan miktarlarını salgırlar. Mikrobiyal yan ürünlerin miktarı arttıkça, daha yüksek atık yan ürün seviyeleri vücudun atık uzaklaştırma mekanizmalarına aşırı yük bindirebilmektedir.

Disbiyoz mevcut olduğunda gözlemlenen olumsuz sağlık semptomlarının çoğuna neden olan bu iki olumsuz sonucun birleşimidir.

Bir insanın mikrobiyomu, hücre aracılı iltihaplanma ve konak aracılı iltihaplanma gibi iltihaplanma süreçleri veya iltihaplanmaya neden olan/şiddetlendiren bir "sürücü" bakteri nedeniyle değişebilmektedir. Bu değişiklik, mikrobiyal topluluğun patojenlere karşı daha duyarlı hale gelmesini sağlar. Patojenler başarılı bir şekilde oluşturulduktan sonra disbiyozda katkıda bulunmaktadır. Genotoksinler ve diğer potansiyel kansere neden olan mikrobiyal metabolitler üretmektedir. Patojenlerin evrimi, kanser riskinde potansiyel bir artışa katkıda bulunan disbiyozun bir başka olası etkisidir (Sheflin ve ark., 2014).

Bağırsak disbiyozu, "sinyal molekülleri ve biyoaktif metabolitler yoluyla" kardiyovasküler sistemi etkileyebilmektedir. Bu, kalp yetmezliğine ve kronik böbrek hastalığı, hipertansiyon, obezite ve diyabet gibi diğer durumlara yol açabilen nöro-entero-endokrin hormonlar yoluyla hastalıklara neden olabilmektedir (Koszewicz ve ark., 2021).

1.3.3 Hastalıklarla ilişkisi

Sağlıklı insanlarda konakçı ve bağırsak mikrobiyotası arasında çapraz regülasyon meydana gelir, bu da gastrointestinal sistemi sağlıklı tutan ve potansiyel

olarak patojenik bakterilerden uzak tutan bakterilerin homeostatik dengesi ile sonuçlanmaktadır. Disbiyozun üç önemli kategorisi bulunmaktadır: faydalı organizmaların kaybı, potansiyel olarak zararlı mikroorganizmaların aşırı büyümesi ve genel mikrobiyal çeşitliliğin kaybı. Mikrobiyomdaki bozulmalar, dış faktörlerin ve hatta mikrobiyomun patojenik üyelerinin bağırsak ortamında tutulmasına izin verebilmektedir. Disbiyozun çoklu kimyasal duyarlılık, periodontal hastalık, inflamatuvar bağırsak hastalığı, kronik yorgunluk sendromu, obezite, kanser, bakteriyel vajinoz ve kolit gibi hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (DeGruttola ve ark., 2016).

1.3.3.1 IBH

IBH'nın mono-ilişkili bir nedeni yoktur; IBH ile ilişkilendirilen üç ana patojen, Mycobacterium avium paratuberculosis (MAP), yapışık invaziv escherichia coli (AICE) ve clostridium difficile'dir. Bu patojenlerin IBH'nın sebebi olduğuna dair bir kanıt bulunmamaktadır. “Bir-mikrop-bir hastalık” hipotezinden ziyade, IBH'nın, konakçı ve tüm bağırsak mikrobiyotası arasındaki daha karmaşık etkileşimlerle ilişkili kommensal mikroflora dengesizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (DeGruttola ve ark., 2016).

1.3.3.2 Obezite

Obezite, vücudun sağlıklı miktarda yağ tuttuğu metabolik bir durumdur. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'ne göre, 2015-2016'da kaydedilen yaklaşık 93,3 milyon yetişkin ve 14,4 milyon çocuk ile Amerika Birleşik Devletleri'nde obezite prevalansı artmaktadır. IBH'a benzer şekilde, belirli bir mikrobiyota obezitenin gelişimi ile bağlantılı görünmektedir. Obez bireylerde mikrobiyal çeşitlilikte kayda değer bir azalma vardır. İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan araştırmalar, Bacteroidetes ve Firmicutes arasında değişen oranlar ile obezite arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir; Bacteroidetes azaldıkça Firmicutes artar. Bu oran, vücut ağırlığı ve yağ birikimi ile bağlantılıdır, bu da obez insanların bu bakterilerin orantısız bir oranının daha yüksek olduğunu gösterir (DeGruttola ve ark., 2016).

1.3.3.3 Diyabet

Diabetes mellitus (DM), vücudun şekerleri ve nişastaları enerjiye dönüştürmek için ihtiyaç duyduğu, yetersiz insülin çıkışı veya kullanımı ile karakterize bir karbonhidrat metabolizma bozukluğudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde DM prevalansı yılda yaklaşık 17 milyon yeni tanı ile yaklaşık 29.1 milyondur. Diyabetin iki

formu Tip 1 ve Tip 2'dir. Tip 1 DM ayrıca İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus (IDDM) olarak da bilinir. Tip 1 diyabet, pankreastaki beta hücrelerini etkileyerek insülin üretiminin bozulmasına neden olan otoimmün bir durumdur. En sık çocuklarda ve genç erişkinlerde teşhis edilir. İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM) olarak da bilinen Tip 2 diabetes mellitus, yetişkinleri etkileyen ve doku duyarlılığı insülini azaldığında ortaya çıkan ve vücudun insülini görmezden gelmesine neden olan insülin direnci ile karakterize bir diyabet türüdür. Araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının disbiyozunun her iki diyabet formuna da katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Tip 1 DM ile ilgili disbiyoz, Bifidobacteria, Lactobacillus ve Prevotella gibi müsin indirgeyen bakterilerde azalma ve Bacteroidetes ve Clostridium'da bir artış ile karakterize edilmektedir (DeGruttola ve ark., 2016).

1.3.3.4 Kanser

Uzun süreli disbiyoz dönemleri, bağırsak mikrobiyomunda uzun süreli stres ve iltihaplanmaya yol açar ve bu da kanserojen metabolitlerin üretimini teşvik edebilir. Bağırsak disbiyozu, kolorektal kanser (KRK) ile ilişkilendirilmiştir. Amerikan Kanser Derneği'ne göre, kolorektal kanser Amerika Birleşik Devletleri'nde en yaygın üçüncü kanser ve kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir. KRK hastalarında, bütirat üreten bakterilerde bir azalma ve birkaç potansiyel olarak patojenik bakteri oranında bir artış dahil olmak üzere genel bir disbiyoz paterni keşfedilmiştir (DeGruttola ve ark., 2016).

1.3.3.5 Clostridioides difficile

C. difficile, antibiyotik tedavisi gibi mikrobiyomda bir bozulmanın ardından hastaları yaygın olarak enfekte eden fırsatçı bir bakteridir. Enfeksiyon, sulu ishal, ateş, iştahsızlık, mide bulantısı ve karın ağrısı gibi birkaç farklı semptomu yol açabilir. *C. difficile*'nin şiddetli veya kronik enfeksiyonları, kolit olarak bilinen bir durum olan kolon iltihabına yol açabilir (Surawicz ve ark., 1989).

1.3.3.6 Periodontitis

Periodontitis, dişleri destekleyen kemiklere zarar verebilen ve diş kaybına yol açabilen oral bir enfeksiyondur. Periodontitis için en önemli risk faktörlerinden biri, patojenik bakteri birikimi olacak şekilde oral mikrobiyomun bozulmasıdır. Çalışmalar, periodontitis ilerledikçe oral mikrobiyotanın gram pozitif aeroblardan gram negatif anaeroblara doğru değiştiğini göstermektedir. Oral disbiyozun, simbiyotik konak-

mikrop ilişkisini patojenik bir ilişkiye kaydırması muhtemeldir. Bu süre zarfında, konağın ağız sağlığı bozulur ve sonunda klinik hastalığa yol açar (Nath ve Raveendran, 2013).

1.3.4 Tedaviler

1.3.4.1 Antibiyotikler

Mikrobiyomdaki karmaşık etkileşimler nedeniyle, dysbacteriosis tedavisinde antibiyotik kullanımının etkinliği hakkında çok fazla veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, rifaksimın adı verilen bağırsak bağırsak mikrobiyomu üzerinde düşük etkiye sahip geniş spektrumlu bir antibiyotiğin, irritabl bağırsak sendromu, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı dahil olmak üzere Disbiyoz ile ilişkili bazı rahatsızlıkların iyileştirilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Shafran ve Johnson, 2005).

Çoğu antibiyotik tedavi süresince bağırsak mikrobiyotasını değiştirirken, bazıları uzun süreli değişikliklere neden olmaktadır. Bununla birlikte, antibiyotiklere tekrar tekrar maruz kalmak, amaçlanan etkinin tersine neden olabilmektedir ve bağırsak mikrobiyomunu dengesizleştirebilmektedir, bu da antibiyotiğe dirençli patojenik bakterilerin büyümesini teşvik etmektedir (Weiss ve Henet, 2017).

1.3.4.2 Fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT)

Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu (FMT), randomize, kontrollü klinik çalışmalarda antibiyotiklere yanıt vermeyen tekrarlayan *C. difficile* enfeksiyonlarının neden olduğu disbiyoz ile ilişkili enfeksiyonların yüzde 80-90'ını çözen deneysel bir tedavi yöntemi olmuştur. Bir hastanın kolonu, FMT sırasında dikkatle taranmış, sağlıklı bir dışkı donöründen alınan dışkı hazırlığıyla nakledilmektedir. FMT'nin, hastanın mikrobiyomunu boşluk için *C. difficile* ile rekabet eden çeşitli mikroorganizmalarla yeniden doldurarak çalıştığı düşünülmektedir (Gianotti ve Moss, 2016).

FMT'ler, probiyotiklerle aynı akıl yürütme çizgisini kullanmaktadır; faydalı mikroorganizmaları çevreye sokarak mikrobiyomda sağlıklı bir mikrobiyota dengesi oluşturmak amaçlanmaktadır. FMT bunu, sağlıklı bir bireyden seyreltilmiş, süzölmüş ve hastalıklı bir hastaya tanıtılmış dışkı maddesi bağıışı olarak başarmaktadır. FMT'ler şu anda *Clostridium difficile* enfeksiyonlu, diğer tedavilere dirençli olduğu kanıtlanmış hastaları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Ancak bu, şu anda tam olarak tanımlanmamış risklerle araştırma amaçlı bir tedavi olarak kabul edilmektedir. İşlem steril olmadığından ve kontaminasyonlar donörden hastaya geçebildiğinden, önemli

mikrobiyotayı izole etmek ve bunları bağımsız olarak kültürlemek için bir baskı bulunmaktadır (Smith ve ark., 2014).

1.3.4.3 Probiyotikler

Dünya Sağlık Örgütü probiyotikleri "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlamaktadır. Disbiyozla ilgili hastalıkları tedavi etmek için probiyotik kullanmanın yararı, söz konusu hastalıkların altında yatan nedeni tedavi etme yeteneğinde yatmaktadır. Bazı faydalar, mikrobiyomdaki iltihabı bastırma ve patojenler tarafından kolonizasyonu bozma yeteneklerini içermektedirler. (Drakes ve ark., 2004).

Aşırı antibiyotik kullanımı, IBH, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalık ve daha birçok rahatsızlık, özellikle insan bağırsağındaki mikrobiyomdaki (disbiyoz) kesintilerle ilgili olmaktadır. Probiyotikler, disbiyotik bir mikrobiyomda sunulan zayıflıkları güçlendirmek için yararlı bakterileri tanıtarak veya yeniden tanıtarak daha sağlıklı mikrobiyal işlevi teşvik edebilmektedir. Bu tür durumların, zararlı olanlardan daha sık meydana gelen faydalı bakteriler olduğunu bilmek önemlidir. Probiyotikler, antiinflamatuvar özellikler oluşturarak ve immün hücre fonksiyonunu geliştirerek mevcut koşullara yardımcı olmak ve bu tür hastalıkları önlemek için kullanılabilir (Wischmeyer ve ark., 2016).

İnsan bağırsağı çok çeşitli bakteri içermekte ve diyet, ilaç kullanımı, hastalıklar ve diğerleri yoluyla kolayca bozulabilmektedir. Probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasını homeostatik dengeye döndürmede ve bağırsak sağlığını iyileştirmede etkili olduğu kanıtlanmıştır. Probiyotikler, mikrobiyal disbiyozdan kaynaklanan bağırsak hastalıklarının önlenmesine ve tedavisine yardımcı olan anti-inflamatuvar özellikler içermektedir. Probiyotiklerin çeşitli disbiyoz biçimleri için sunabileceği birçok yararı daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır (Kim ve ark., 2019).

1.4 Kan Plazması

Kan plazması ve serumu, biyolojik ve klinik araştırmaların ayrılmaz bir parçasıdır. Tam kandan, çeşitli biyokimyasal süreçlerle hem plazma hem de serum elde edilir. Plazmanın büyük bir bölümü, yaklaşık %6-8'ini oluşturan proteindir ve bu proteinlerin önemli bir kısmı karaciğerde üretilen pıhtılaşma proteinleri ve bunların inhibe edici maddeleridir. Pıhtılaşma süreci aktive olduğunda, kan dolaşımında bulunan

fibrinojen, fibrine dönüşür ve bu, vasküler hasar bölgesinde stabil bir kan pıhtısı oluşumuna yardımcı olur. Pıhtılaşma inhibe edici proteinler, anormal pıhtılaşmayı (hiper pıhtılaşmayı) engelleme ve var olan pıhtıların çözülmesini sağlama işlevi görür. Eğer plazmanın pıhtılaşmasına izin verilirse, fibrinojen fibrine dönüşür ve kanın hücrel bileşenlerini hapseder. Bu durumda, hücreler ve fibrinojen olmayan sıvıya serum adı verilir (Jaffe ve ark., 2000; Yu ve ark., 2011).

Kan plazmasının elde edilmesi, kan hücrelerinin ayrılmasından önce antikoagülan maddelerin, örneğin EDTA veya heparin, eklenmesiyle gerçekleşir. Tam kandan ayrılan kırmızı kan hücreleri (eritrositler), beyaz kan hücreleri (lökositler) ve trombositlerin ardından geriye kalan sıvı, plazmayı oluşturur. Bu saman rengi sıvının %90-92'si sudur, ancak sağlık ve yaşamın sürdürülmesi için gerekli olan çeşitli çözülmüş maddeleri de içerir. Sodyum, potasyum, klorür, bikarbonat, magnezyum ve kalsiyum gibi elektrolitler, bu maddelerin başında gelir. Ek olarak, amino asitler, vitaminler, organik asitler, pigmentler ve enzimler de iz miktarda bulunur (Jaffe ve ark., 2000; Yu ve ark., 2011).

Kan plazması, geniş kapsamlı kullanım alanı sayesinde, biyokimyasal analizlerin kritik bir unsuru haline gelmiştir ve modern klinik pratikte tanı ve tedavi izlemeye büyük katkı sağlar. Kan plazması, insan vücudunun fizyolojik durumunu ayrıntılı bir şekilde yansıtan birçok biyobelirteci, proteinler, elektrolitler, üre, glikoz vb. içerdiği için, günümüzde kan testlerinin tanısal değeri büyümekte ve bu durum dünya genelinde birçok şirketin kurulmasını ve hizmet vermeye başlamasını tetiklemiştir (Tripathi ve ark., 2021).

1.4.1 Kan plazma değişimi

Günümüzde, kan plazması ile ilgili yapılan çalışma sayısı nispeten kısıtlı olsa da, elde edilen sonuçlar kesinlikle göz alıcıdır. Kan plazmasının popüleritesi, özellikle genç kan plazması faktörlerinin yaşlanma üzerindeki potansiyel etkileri sayesinde, yaşlanma karşıtı araştırmalar için büyük bir umut kaynağı olmuştur. Başlangıçta, kan plazması transferi genellikle parabiosis olarak bilinen bir prosedürle gerçekleştirildi; bu prosedür, iki canlı hayvanın dolaşım sistemlerinin kan transferi için cerrahi olarak birbirine bağlandığı bir uygulamadır. Deneysel anti-aging müdahale stratejisi, genç kan kaynaklı faktörlerin yaşlanmayı önleyici etkisine dayanmaktadır. Genç kanın faktörleri, yaşlı bir organizmada dokuların yenilenmesini teşvik etmek için kas, karaciğer ve/veya sinir kök

hücrelerinin hücresel yollarını aktive edebilir. Ancak bu tarihsel metodoloji, belirsiz nedenlerle 1970'lerden beri kullanılmamaktadır. Yine de gençleştirici faktörlerin, dokulardaki hasarı onarabilme ve doku işlevini yeniden kazanabilme yeteneği tespit edilmiştir (Scudellari, 2015). Daha sonraki çalışmalar, bu faktörlerin kısmen yaşlanma karşıtı özelliklere sahip olduğunu göstermiştir, ancak kan plazmasının terapötik kullanımı için daha kapsamlı bir prelinik araştırmaya ihtiyaç vardır (Conese ve ark., 2017). Bununla birlikte, bu alanda zaten bazı önemli çalışmalar tamamlanmıştır.

Akut merkezi sinir sistemi iltihaplı demiyelinizan hastalığının tedavisinde plazma değişiminin rolü üzerine detaylı bir çalışma yürütülmüştür. Bu rahatsızlıkla mücadele eden hastalarda plazma değişiminin etkinliği belirlenmeye çalışılmış ve bu süreçte bir dizi randomize klinik deney tasarlanmıştır. Bu deneylerin amacı, plazma değişimi yönteminin hastalığın semptomlarını hafifletmekte ne derece etkili olduğunu ve bu yöntemin ne kadar güvenli olduğunu belirlemektir. Elde edilen bulgular, plazma değişimine tabi tutulan hastaların, bu tedaviyi almayanlara kıyasla, kısa vadede daha hızlı ve daha yüksek oranlarda iyileşme gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak, bu tedavinin uzun vadedeki etkilerine ilişkin net bir sonuca varılamamıştır. Bu sonuçlar, akut merkezi sinir sistemi iltihaplı demiyelinizan hastalığında plazma değişiminin belirgin bir kısa vadeli iyileşme sağlayabileceğine işaret ederken, uzun vadede ne tür sonuçlar doğuracağını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermiştir (Weinshenker ve ark. 1999).

Yaşlanan sistemik ortamın sinir hücresi oluşumu ve bilişsel işlevler üzerindeki olumsuz etkisi, yaşlı ve genç fareler arasında oluşturulan heterokronik parabiyotik bağlantıları kullanarak incelendi. Araştırma, yaşlanma sürecinin beyin fonksiyonları üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla genç farelerle birleştirilen yaşlı farelerde sinir hücresi oluşumunun artışı ve bilişsel işlevlerin iyileşmesini ortaya koydu. Buna karşılık, yaşlı farelerle birleştirilen genç farelerde sinir hücresi oluşumunun azaldığı ve bilişsel işlevlerin kötüleştiği gözlemlendi. Bu bulgular, yaşlanmanın sistemik etkilerinin beyin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyebileceğini ve yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşe katkıda bulunabileceğini gösteriyor (Villeda ve ark., 2011). Farklı yaşlardaki farelerin plazma örnekleri üzerinde yapılan bir çalışma, yaşlanma sürecine ilişkin biyobelirteçlerin profili çıkarılmaya çalışılmıştır. Bu araştırma, yaşlanmanın moleküler mekanizmalarını anlama ve yaşlanma sürecine ilişkin biyobelirteçlerin belirlenmesine yardımcı olma amacını taşır. Yaşlanmayla ilişkili potansiyel biyobelirteçler, fare

plazmasında oksidatif stres, inflamasyon, hormon düzeyleri ve metabolik süreçlerle ilişkilendirilmiştir. Bu biyobelirteçlerin, yaşlanmayı anlamak ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların erken teşhisi ve tedavisi için potansiyel araçlar olabileceği belirlenmiştir (Ding and Kopchick, 2011).

Bir araştırmada, yaşla ilişkili kardiyak hipertrofinin tersine çevrilmesinde dolaşımdaki bir faktör olan büyüme diferansiyasyon faktörü 11'in (GDF-11) rolü incelenmiştir. Yaşlanma sürecinde kalbin büyümesi ve fonksiyonlarının azalmasına yol açan kardiyak hipertrofi, yaşlanan bireylerde kalp hastalığı riskini artıran önemli bir faktör olarak tanımlanmıştır. Genç ve yaşlı fareler arasında parabiyoetik bağlantılar kurularak bu faktör üzerinde çalışılmıştır. Genç farelerden alınan GDF-11'in yaşlı farelerin kalplerindeki hipertrofiyi önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir, bu bulgular GDF-11'in potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini göstermektedir (Loffredo ve ark., 2013). Başka bir çalışma, yaşlanmayı IKK- β , NF- κ B ve GnRH içeren mekanizmalar aracılığıyla nasıl etkilediği üzerine yoğunlaşmıştır. Hipotalamusun yaşlanma sürecinin sistemik düzeyde düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Hipotalamusta yaşlanma ile ilişkili inflamasyonun arttığı ve bu inflamasyonun IKK- β ve NF- κ B yollarını aktive ederek yaşlanma sürecini hızlandırdığı tespit edilmiştir. Bu süreçte, gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) seviyelerinde azalma gözlenmiştir. Ancak, yaşlanan farelere GnRH tedavisi uygulandığında, yaşlanma belirtileri azalmış ve yaşam süresi uzamıştır. Bu çalışma, inflamasyonun yaşlanma sürecini hızlandırdığını ve GnRH'nin potansiyel bir yaşlanma tersine çevirme bileşeni olabileceğini göstermiştir (Zhang ve ark., 2013).

Genç kanın yaşla ilişkili bilişsel işlev bozukluklarını ve farelerdeki sinaptik plastisiteyi tersine çevirebileceğine dair kanıtlar sunan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, yaşlı farelere genç farelerden alınan plazma enjekte edilmiş ve bu işlem sonrasında yaşlı farelerde bilişsel işlevlerde iyileşme ve sinaptik plastisitede artış gözlemlenmiştir. Bu bulgular, genç kanın yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşü ve sinaptik plastisite kaybını tersine çevirebileceğini gösteriyor. Ayrıca, bu çalışma genç kanın yaşlanmayı önleme veya tersine çevirme tedavilerinde önemli bir rol oynayabileceğini öne sürüyor (Saul A. Villeda ve ark., 2014). Bir başka çalışmada, genç sistemik faktörlerin yaşlı fare beyinlerinde vasküler ve nörojenik yeniden canlanmayı teşvik ettiği gösterilmiştir. Genç ve yaşlı fareler arasında yapılan parabiyoetik eşleşmeler (ortak bir dolaşım sistemine sahip olma) kullanılarak bu sonuç elde edilmiştir. Bu eşleşme

sayesinde, yaşlı farelerin beyinlerindeki vasküler ve nörojenik yapıları genç farelerden alınan sistemik faktörlerle iyileştirilmiştir. Bu sonuçlar, genç sistemik faktörlerin yaşlı fare beyinlerinde vasküler ve nörojenik yapıların iyileşmesine ve yeniden canlanmasına katkıda bulunduğunu gösteriyor. Ayrıca, bu tür faktörlerin yaşlanma sürecini tersine çevirme ve yaşlanma ile ilişkili beyin fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeli, yaşlanma ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesine önemli bir katkı sağlıyor (Katsimpardi ve ark., 2014).

Bilişsel işlev ve nöroenez üzerinde olumsuz etkiler yaratan potansiyel faktörlerin incelenmesine odaklanan bir çalışmada, β 2-mikroglobulinin (β 2M) yaşlanan farelerin dolaşımında yüksek düzeylerde bulunduğu ve bu proteinin nöroenezdeki azalmaya ve bilişsel işlevdeki bozulmaya katkıda bulunduğu bulunmuştur. Bu etkiler, β 2M'nin yaşlı farelerin dolaşımından uzaklaştırılması veya genç farelerin dolaşımına eklenmesiyle tersine çevrilebilir olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, β 2-mikroglobulinin yaşlanma süreci ile ilişkili olduğunu ve yaşlanan bireylerde bilişsel işlevler ile nöroenez üzerinde olumsuz etkiler yarattığını göstermektedir (Smith ve ark., 2015). Yaşlı ve genç fareler arasında gerçekleştirilen tek bir heterokronik kan değişiminin yaşlanma süreci üzerindeki etkilerini inceleyen bir başka çalışmada, yaşlı kanın hızlı bir şekilde genç doku rejenerasyonunu ve fonksiyonunu inhibe ettiği, buna karşılık genç kanın yaşlı doku rejenerasyonu ve fonksiyonunu geliştirdiği gösterilmiştir. Özellikle, yaşlı kanın eklenmesi, genç farelerde karaciğer ve beyin fonksiyonlarında bozulmaya yol açarken, genç kanın eklenmesi yaşlı farelerde bu fonksiyonların iyileşmesine katkıda bulunmuştur. Bu sonuçlar, yaşlanma sürecinin ve yaşlı kanın genç doku üzerindeki olumsuz etkilerinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunarak, yaşlanma ile ilişkili bozulmaların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel hedefler sunmaktadır (Rebo ve ark., 2016).

Alzheimer hastalığının ilerlemesini önlemeye veya yavaşlatmaya yönelik potansiyel bir tedavi olarak genç kan plazmasının etkileri üzerinde bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, genç kan plazmasının yaşlı farelerde beyin fonksiyonu ve yapısal değişiklikler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Deneyler, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığı ile ilişkili nöropatolojik belirtileri ve bilişsel işlev bozukluğunu hafifletebileceği, nöroinflamasyonu azaltabileceği, nöronal bağlantıları güçlendirebileceği ve bilişsel fonksiyonların iyileşmesine katkıda bulunabileceği sonucunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığının

ilerlemesine karşı potansiyel bir koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu sonuçların insanlara uygulanabilirliği ve genç kan plazmasının Alzheimer hastalığı üzerindeki etkisinin tam olarak anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Middeldorp ve ark., 2016). Yaşlı farelerin beyin fonksiyonlarını ve öğrenme yeteneklerini iyileştirebilecek gençleştirici faktörlerin varlığını araştıran bir diğer çalışmada, yaşlanan farelerin hipokampuslarına insan göbek kordonu plazması (HUCP) enjekte edildiğinde, yaşlı farelerin hipokampal fonksiyonlarında ve öğrenme yeteneklerinde önemli ölçüde iyileşme sağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca, HUCP tedavisi alan yaşlı fareler, öğrenme ve hafıza görevlerinde genç farelerle benzer performans sergilemiştir. Araştırmacılar, bu olumlu etkilerin, HUCP'de bulunan ve yaşlı farelerin beyinlerinde düşük seviyelerde bulunan "TIMP2" adlı bir proteinle ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Ancak, bu bulguların insanlar üzerindeki etkilerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Castellano ve ark., 2017).

Genç plazmanın yaşlanan karaciğer fonksiyonları üzerindeki etkileri üzerine yapılan bir araştırmada, yaşlı farelerin karaciğer fonksiyonlarında yaşa bağlı değişikliklerin genç plazma enjeksiyonları ile tersine çevrilebileceği bulundu. Bu etkinin, hücrelerin kendi yapılarını ve moleküllerini parçalayarak enerji elde etme ve hasar görmüş yapıları ortadan kaldırma süreci olan otofajinin yeniden sağlanması yoluyla gerçekleştiği belirlendi. Bu bulgular, genç plazmanın yaşlanma ile ilişkili karaciğer fonksiyon bozukluklarını önlemek veya tersine çevirmek için potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir (Huang ve ark., 2018). Bir başka araştırmada, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığıyla savaşmada potansiyel bir tedavi olarak kullanılabilirliği değerlendirildi. Alzheimer hastalığının patogenezindeki mekanizmaları ve genç kan plazması ile Alzheimer hastalığı arasındaki potansiyel etkileşimler gözden geçirildi. Genç kan plazması, yaşlanma ile ilgili bilişsel bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklar üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Alzheimer hastalığı olan kişilere genç kan plazması uygulamanın, beyin fonksiyonlarını ve yapılarını yeniden canlandırarak hastalığın ilerlemesini yavaşlatma veya durdurma potansiyeline sahip olduğu öne sürüldü. Ancak, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılabilirliği ve etkinliği hakkında daha fazla araştırma yapılması gerektiği belirtildi. İleride yapılacak çalışmaların, genç kan plazması ve Alzheimer hastalığı arasındaki etkileşimleri daha iyi anlamamıza ve yeni terapötik yaklaşımlar geliştirmemize yardımcı olacağı düşünülmektedir (Aicardi, 2018).

Yaşla ilişkili biyolojik değişikliklerin daha iyi anlaşılması amacıyla, bir çalışma 4267 katılımcının plazma örneklerini analiz etmiştir. Bu analizler, yaşam süresi boyunca plazma proteom profillerinde dalgalanmalar olduğunu ortaya koymuştur. 1300'den fazla proteinin yaşla birlikte düzenli olarak değiştiği bulunmuştur. Bu tespit, yaşlanma sürecine katkıda bulunan faktörleri ve hastalıkları daha iyi anlamamıza yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Yaşla bağlantılı plazma protein değişikliklerinin karmaşık bir yapıya sahip olduğu ve bu değişikliklerin yaşam boyu sürekli olarak gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu çalışma, yaşlanma sürecini daha iyi anlamak için insan plazma proteom profillerinin analizinin önemini vurgulamaktadır (Lehallier ve ark., 2019). Bir başka çalışma, genç plazmanın yaşlılarda karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını hafifletme potansiyelini incelemiştir. Kan akışının geçici olarak durdurulduğu ve ardından geri kazanıldığı bir durum olan iskemi-reperfüzyon hasarı nedeniyle yaşlı farelerde meydana gelen karaciğer hasarının genç plazma ile hafifletilebileceği gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçları, genç plazmanın bu süreçte antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler gösterdiğini ve yaşlı farelerde karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, genç plazmanın yaşlanma ile ilişkili karaciğer hasarını hafifletme potansiyeline işaret etmektedir (Liu ve ark., 2019). Bir diğer çalışma insanlardaki bağırsak mikrobiyomu çeşitliliği ile kan metabolitlerinin ilişkisi üzerine odaklanmıştır. Kan örneklerinin analizine dayanarak, geniş bir katılımcı yelpazesinde bağırsak mikrobiyomunun α -çeşitliliğini tahmin etmekte kullanılabilen özel metabolitlere işaret eden bir model geliştirilmiştir. Bu bulgular, metabolom ve mikrobiyom arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılmasına ve insan sağlığı için potansiyel uygulamalarına katkı sağlamaktadır (Wilmanski ve ark., 2019).

Egzersiz nörögenез ve bilişsel işlevler üzerindeki olumlu etkisini transfer edebilen kan faktörlerinin varlığını vurgulayan bir çalışma, yaşlı farelerin beyinlerinde bu faktörlerin kullanılabilirliğini incelemiştir. Genç farelerden alınan egzersize bağlı kan faktörlerinin yaşlı farelere enjekte edilmesiyle, bu yaşlı farelerin beyinlerinde nörögenезde artış ve bilişsel işlevlerde iyileşme gözlemlenmiştir. Bu bulgular, egzersizin yaşlanan beyinde nörögenез ve bilişsel işlevleri iyileştiren faktörler ürettiğini ve bu faktörlerin yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşü ve nörögenез azalmasını hafifletebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, yaşlanma sürecinde beyin sağlığını desteklemek için egzersiz ve kan faktörleri bazlı tedavi stratejilerinin potansiyelini ortaya koymaktadır (Horowitz ve ark., 2020). Genç sıçanlardan alınan plazmanın yaşlı

sıçanlara enjekte edilmesinin yaşlanma karşıtı etkiler oluşturup oluşturmadığını araştıran bir başka çalışma, genç sıçan plazmasının yaşlı sıçanlarda yaşlanma ile ilişkili belirtiler, biyokimyasal parametreler ve antioksidan savunma mekanizmalarında değişiklikler yaratabileceğini göstermiştir. Bu yaşlı sıçanlarda, antioksidan enzim aktivitelerinde ve protein karboksilasyon düzeylerinde önemli düzeltilmeler gözlemlenmiştir, bu düzeltilmeler yaşlanma sürecine karşı koruyucu etkiler sağlamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, genç sıçan plazmasının yaşlı sıçanlara enjekte edilmesinin yaşlanma karşıtı etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Tripathi ve ark., 2021).

Yaşlanan dokularda kök hücre yeniden canlanması ve sistemik gençleşmenin mümkün olup olmadığını inceleyen bir çalışma, yaşlı ve genç sıçanlar arasında heterokronik parabiyoz (farklı yaşlardaki bireylerin dolaşım sistemlerinin birleştirilmesi) yöntemini kullanmıştır. Araştırmacılar, genç sıçanlarla yaşlı sıçanların dolaşım sistemlerini birleştirerek yaşlanma ile ilişkili biyolojik belirtiler ve kök hücre fonksiyonları üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Yaşlı sıçanlarda genç sıçanlarla parabiyoz uygulaması sonrasında, yaşlanma belirtilerinde ve hücrelerde gençleşme gözlemlenmiştir. Yaşlı sıçanlarda kalp, karaciğer, akciğer, kas ve beyin gibi organlarda kök hücre aktivasyonunu ve doku yeniden canlanmasını tetiklemiştir. Bu yeniden canlanma süreci, kök hücrelerin yaşlanma sürecini tersine çevirerek, yaşlanan dokularda fonksiyonel yeniden canlanma ve sistemik gençleşme sağlamıştır. Bu bulgular, heterokronik parabiyozun yaşlanan dokularda kök hücre yeniden canlanması ve sistemik gençleşme sağlayabileceğini göstermektedir (Ma ve ark., 2022).

2. MATERYAL METOT

2.1 Hayvan Çalışmaları

Bu çalışmada, Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar model organizma olarak kullanılmıştır. Yaşlı sıçanlar (24 ay, n = 6), genç sıçanlardan (5 hafta, n = 51) toplanan havuzlanmış plazma (günlük 0,5 ml, 30 gün boyunca kuyruk damarından intravenöz olarak) ile tedavi edilmiştir. Genç sıçanlar (5 hafta, n = 6), yaşlı sıçanlardan (24 ay, n = 16) toplanan havuzlanmış plazma (günlük 0,25 ml, 30 gün boyunca kuyruk damarından intravenöz olarak) ile tedavi edilmiştir. Plazma temini için feda edilen hayvan sayısı, hayvandan elde edilebilen plazma miktarına göre belirlenmiştir. 24 aylık bir sıçanın ortalama 10 ml kanı bulunmaktadır. 10 ml kan örneğinde, ortalama 5 ml kan plazması elde edildiği bilinmektedir. Benzer şekilde, 5 haftalık bir sıçanın ortalama 5 ml kanı bulunmakta ve bu miktarın 2,5 ml kan plazması içerdiği bilinmektedir. Transfer edilen kan plazması, hayvanın kan plazması miktarının 1/10'u olarak belirlenmiştir (Saul A Villeda ve ark., 2014). Çalışmada kullanılan genç ve yaşlı sıçanlar, deneysel hayvan üretimi ve analizi için bir merkezden temin edilmiştir. Her gruptaki sıçanlar ayrı kafeslerde tutulmuş ve birlikte yaşayan sıçanlar aynı grupta kalmıştır. 12 saat ışık/12 saat karanlık döngüsü ve sabit 21°C sıcaklık altında, serbest erişimli yiyecek ve su bulunan şeffaf pleksiglas kafeslerde (6 sıçan/kafes) barındırılmışlardır. Sıçanlarda alerji veya reddetme belirtisi görülmediği belirtilmektedir. Deney süresince hiçbir hayvan kaybedilmemiştir. Tüm hayvanlar eter ile bayıltılarak, ardından bir gün sonra kurban edilmiştir. Karaciğer dokuları toplanmış, hemen kuru buzda şoklanmış ve -80°C'de saklanmıştır. Çalışma, Saki Yenilli Deneysel Hayvan Üretim ve Uygulama Laboratuvarı Etik Kurulu'nun onayıyla (onay numarası: 2021/03) gerçekleştirilmiştir (Ceylani and Teker, 2022).

2.2 Plazma Toplama ve Hazırlama

Toplanan rat plazması, ötanazi sırasında terminal kalp ponksiyonuyla elde edildi. Plazma, EDTA ile toplanan kanın santrifüj edilmesiyle hazırlandı (1.000g). Plazma denatürasyonu için, plazma 95 °C'de 2-3 dakika boyunca ısıtıldı ve ardından kısa bir santrifüj işlemi (1.000g) uygulandı. Tüm plazma örnekleri -80 °C'de kullanıma kadar saklandı. Uygulama öncesinde, plazma EDTA'yı uzaklaştırmak için PBS içinde 3.5-kDa D-tube dializörleri (EMD Millipore) kullanılarak dialize edildi (Saul A Villeda ve ark., 2014).

2.3 Western Blot Analizi

Bağırsak ileum bölgelerinden proteinler, RIPA tamponu (Santa Cruz, USA) kullanılarak izole edildi. Homojenatlardaki protein içeriği, Bradford testi (176) kullanılarak ölçüldü. Western Blot analizi (177) için bağırsak dokusunun yapısal bütünlüğünü değerlendirmek için occludin (Proteintech, 13409-1-AP), Zone-Occludin-1 (Invitrogen, #PA5-28858) seviyeleri kullanıldı. Her bir örneğe protein miktarına göre örnek tamponu ve indirgeyici ajan eklendi, daha sonra protein örnekleri 95°C'de 7 dakika boyunca ısıtıldı. Proteinler (25 µg), Mini-Protean TGX stain free jel (Biorad, USA) üzerine yüklendi ve 150 V'de 1 saat boyunca çalıştırıldı. PVDF membrana transfer, 25 V, 2.5 A'da 8 dakika boyunca gerçekleştirildi. Nonspesifik bağlanma, oda sıcaklığında 1 saat boyunca blokaj tamponunda (5% BSA (w/v) 1% TBST) engellendi. Membran, 10 dakika boyunca üç kez TBST ile yıkandıktan sonra primer antikorla birlikte bir karıştırıcı üzerinde 4°C'de 12-16 saat inkübe edildi. Ardından membran, 5 dakika boyunca dört kez TBST ile yıkanarak ikincil antikorla inkübe edildi (177). Görüntüleme için luminol A ve B çözeltileri 1:1 oranında karıştırıldı, ardından karışım membrana eklendi ve 1 dakika sonra görüntü alındı. Protein ifade değişiklikleri, Image Lab (Yazılım sürümü 5.2.1.) programı kullanılarak belirlendi ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

2.3.1 Bağırsak dokusundan protein izolasyonu

- Bağırsak dokuları (yaklaşık olarak 50mg) proteaz inhibitörü kokteyli (Roche Diagnostics) içeren 1 ml liziz tamponuna [20 mM Tris, (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100] eklenir.
- 4 °C' de homojenizasyon sonrası 10 dk 15.000xg santrifüjlenir ve çözünmeyen kısım atılır.
- Daha sonra protein konsantrasyonu ticari kitler yardımıyla belirlenir (DC protein assay; Bio-Rad)

2.3.2 Uygulanan prosedür

2.3.2.1 SDS-PAGE

- 2X SDS-PAGE örneği tamponu protein örneği ile 1'e 1 (1:1) olacak şekilde eklenir ve 100°C' de 5 dk beklenir.
- Jel SDS-PAGE yürütme tamponunda yıkanır ve örnekler jele yüklenir.

- Örnekler jelin istifleme kısmı boyunca 100 V olacak şekilde ve çözünme kısmı boyunca 200 V' da yürütülür.

2.3.2.2 Transfer

- PVDF membranlar 30 dk boyunca metanolde bekletilir, daha sonra distile suya daldırılır.
- PVDF membranı, 2 tane fiber ped, ve 4 adet whatman kağıdı ile beraber transfer tamponu bulunan tepside birkaç dakika boyunca bekletilir.
- Yürütülme sonrası jel alınarak jelin istifleme kısmı atılır.
- Jel daha sonra transfer sandviçi sırasıyla şu şekilde hazırlanır:
 - ✓ Fiber ped
 - ✓ Adet Whatman kâğıdı
 - ✓ SDS jel
 - ✓ PVDF membran
 - ✓ adet Whatman kâğıdı
 - ✓ Fiber ped
- Transfer aparatı transfer tamponu ile doldurulur, 4°C' de 100V akımda transfer gerçekleştirilir.

2.3.2.3 Bloklama ve inkübasyon

- Membran bloklama tamponunda karıştırıcıda 1-2 saat boyunca 37°C veya gece boyunca 4°C inkübe edilir.
- Birincil antikor birincil antikor dilisyon tamponu ile seyreltilir. Membran seyreltilmiş antikorda 1 saat boyunca 37°C veya gece boyunca 4 °C inkübe edilir.
- Membran yıkama tamponu ile 4 defa 5-10 dk bekleme süreleri olacak şekilde.

2.4 Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR)

Spektroskopisi ile Örneklerin Analizi

Tüm hayvanların bağırsak örnekleri, herhangi bir ön işlem yapılmadan ATR biriminin Zn/Se kristali üzerine sıkıştırıldı ve iki kez ATR-FTIR spektrometre (PerkinElmer) ile 4 cm⁻¹ çözünürlükte ve 32 tarama sayısında incelendi. Spektrumlar, Spectrum One (PerkinElmer) yazılımıyla 4000-650 cm⁻¹ dalga boyu aralığında elde edildi (Ceylani ve ark., 2022).

2.4.1 Kızılötesi spektral bantların nicelendirilmesi

Spektral veri analizi, OPUS 5.5 (Bruker) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir örneğin ortalama spektrumları, bant nicelleme analizlerinden önce 128 baz noktasıyla Lastik Bant düzeltme yöntemi kullanılarak temel çizgisine düzeltildi. Detaylı bant analizlerinde, spektrumların farklı spektral bölgelerindeki en yüksek absorpsiyon değerlerine sahip bantlar seçildi ve bantların başlangıç ve bitiş frekansları hassas bir şekilde belirlendi. Çeşitli biyomoleküllere özgü bantların alanları, OPUS 5.5 (Bruker) yazılımıyla belirlenen frekans aralıklarının integral alanlarının alınmasıyla analiz edildi. Ayrıca, bant baz çizgisinin orta noktasından bantın zirvesine dikey olarak sanal bir çizgi çizilerek, çizginin uzunluğu bir sanal cetvelin yardımıyla ölçüldü. Ardından, çizginin uzunluğunun %0.75'i ile çakışan nokta işaretlenerek, bu noktadan bant boyunca yatay bir çizgi çizildi ve bant genişlik değerleri elde edildi (Ceylani ve ark., 2022).

2.5 Histopatoloji Analizi

İleum örnekleri %10 nötral tamponlu formalinde 48 saat boyunca fikse edildi. Daha sonra dehidrasyon işlemi için sırasıyla bir dizi dereceli alkol serilerinden (%70, %80, %90, %95 ve %100) geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırılan dokular eriyik sıvı parafin içerisinde 2 saat bekletildi. Parafin içerisine dikey olarak gömülü ileum örneklerinin bulunduğu bloklardan rotary mikrotom (Leica, Japonya) kullanılarak 5 µm kalınlığındaki kesitler rodajlı lamalar üzerine alındı ve kurumaya bırakıldı. Kesitlere daha sonra rutin histolojik çalışmalar için hematoksilin ve eozin (H&E) boyama yapıldı. Tüm slaytlar, Nikon Eclipse Ni-U (Tokyo Japonya) DS-Fi2 CCD kamera ataçmanlı ışık mikroskopunda histopatolojik incelemeler için Nikon Elements yazılım programı ile değerlendirildi. Kesitlere ait tüm görüntüler X100 ve X200 büyütmelerinde incelendi (Keskin ve ark., 2023).

2.5.1 H&E boyama

H&E boyama işlemi aşağıdaki adımlardan oluşur. İlk olarak, her bir grup slaytın parafinden arındırılması için ksilene başvuruldu. Slaytlar daha sonra, azalan etanol çözeltilerinin bir serisinden geçirilerek dehidrate edildi. Slaytlar dehidrate edildikten sonra hematoksilin çözeltisine yerleştirildi ve ardından akan suyla durulandı. Slaytlar daha sonra 2 dakika boyunca eosin ile boyandı. Sonraki adımlar, artan etanol çözeltileriyle yeniden hidrasyon ve ksilende temizleme işlemi içerir. Son olarak, tüm boyanmış slaytlar 400X büyütme ile ışık mikroskopu incelemesi için entellan ile monte

edildi (Nikon Eclipse Ni mikroskop (Tokyo, Japonya) ile Nikon DS-Fi2 kamera (Japonya) kullanıldı) (Taner ve ark., 2023).

2.6 İstatistik Analizi

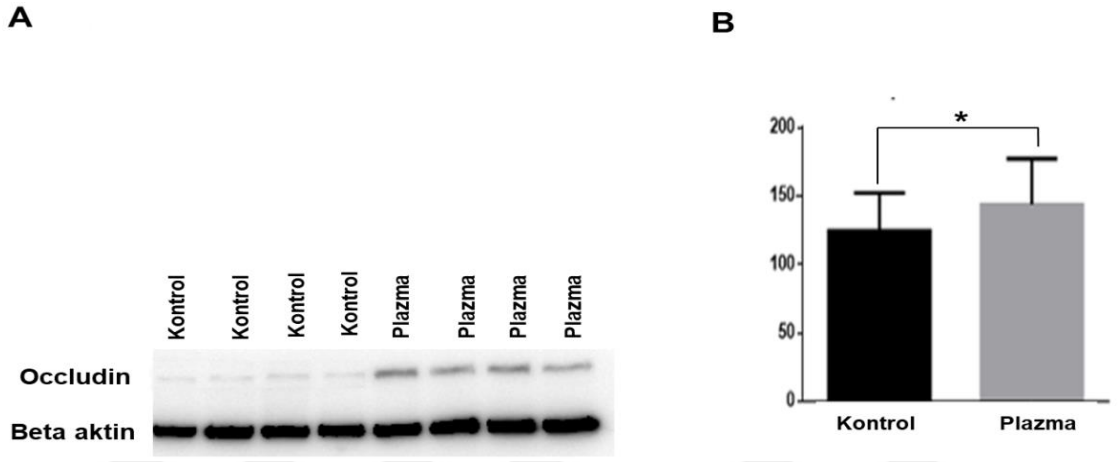
Deneysel verilerin analizi için GraphPad Prism 9.05 (GraphPad, ABD) kullanılarak istatistiksel değerlendirmeler ve grafik çizimleri yapıldı. Veriler, eşleştirilmemiş t-testi ve tek yönlü anova kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasındaki anlamlılık düzeyleri $P \leq 0.05$ *, $P \leq 0.01$ **, $P \leq 0.001$ ***, ve $P \leq 0.0001$ **** olarak belirtildi. Sonuçlar, ortalama \pm SEM (ortalamanın standart hata) olarak sunulmaktadır.



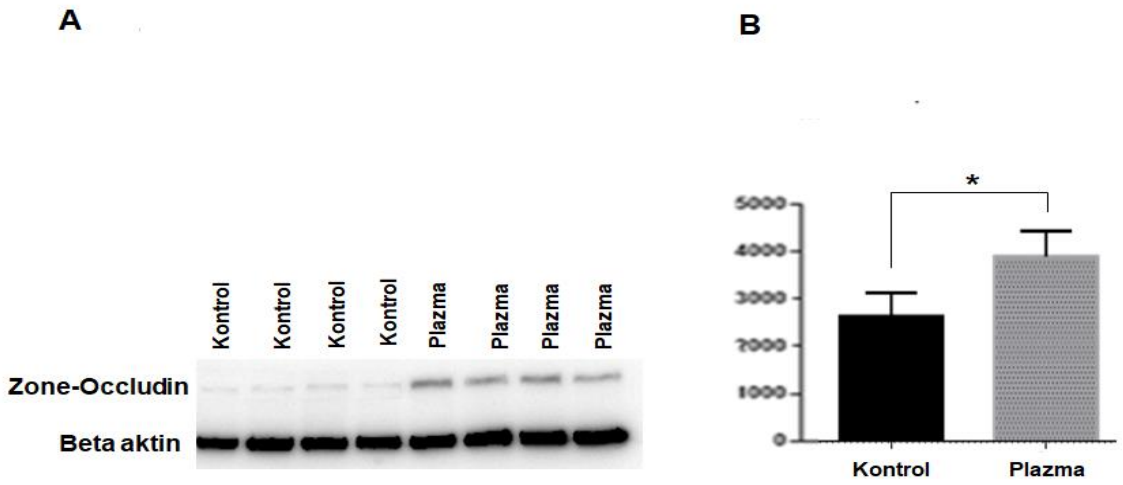
3. BULGULAR

3.1 Sıkı Bağlantı Proteinlerinin İncelenmesi

Bağırsak bariyeri araştırmamız kapsamında, bağırsak ileum bölgesinden occludin ve zona-occludin protein seviyelerini inceledik. Sonuçlarımız, occludin ve zona-occludin seviyelerinin önemli derecede arttığını buldu (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2). Sonuçlar, genç plazmasının yaşlı bağırsak dokuda sıkı bağlantı proteinlerinin artmasında rol alabileceğine işaret etmektedir.



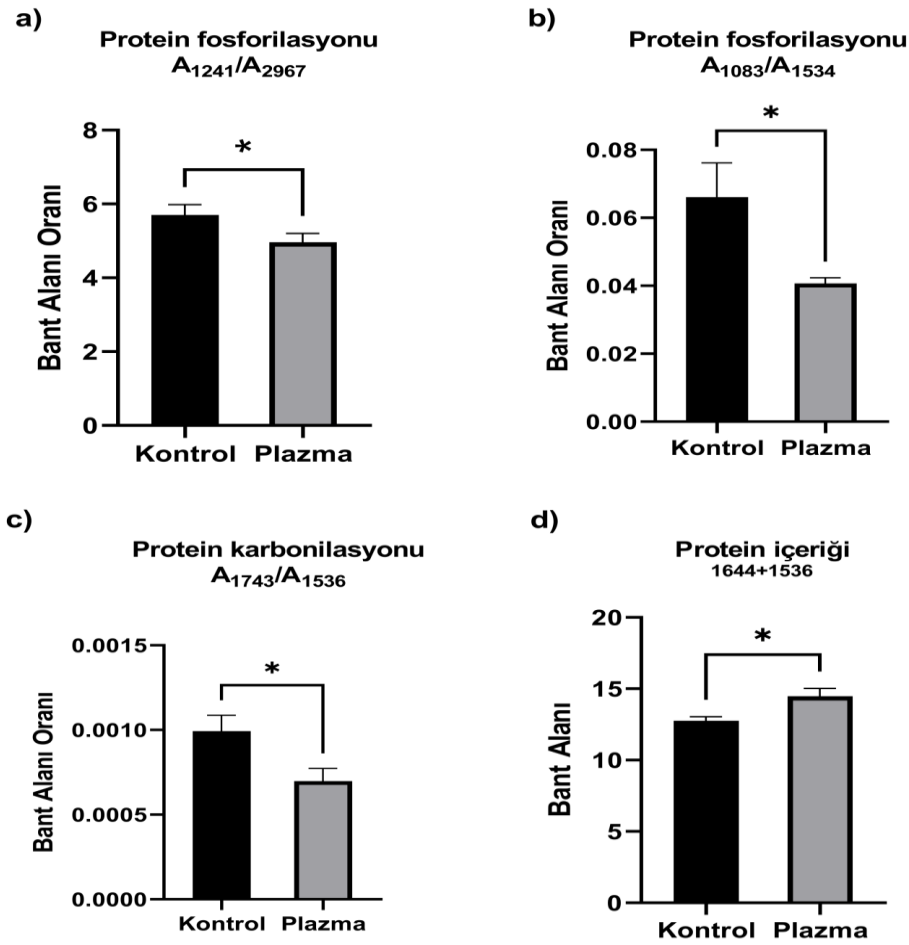
Şekil 3.1 Occludin üzerine yapılan Western Blot analizleri. A) Blotlar, anti-Zone-Occludin ve anti- β -aktin ile araştırıldı. Kontrol: kontrol grupları/4 hayvan örneği Plazma: kafeterya diyeti grubu/4 sıçan örneği B) Bant yoğunluğunun nicel analizi, β -aktin ifadesine normalize edildi. Deneyler 3 kez tekrarlandı, n=3.



Şekil 3.2 Zone-Occludin üzerine yapılan Western Blot analizleri. A) Blotlar, anti-Zone-Occludin ve anti- β -aktin ile araştırıldı. Kontrol: kontrol grupları/4 hayvan örneği Plazma: kafeterya diyeti grubu/4 sıçan örneği B) Bant yoğunluğunun nicel analizi, β -aktin ifadesine normalize edildi. Deneyler 3 kez tekrarlandı, n=3.

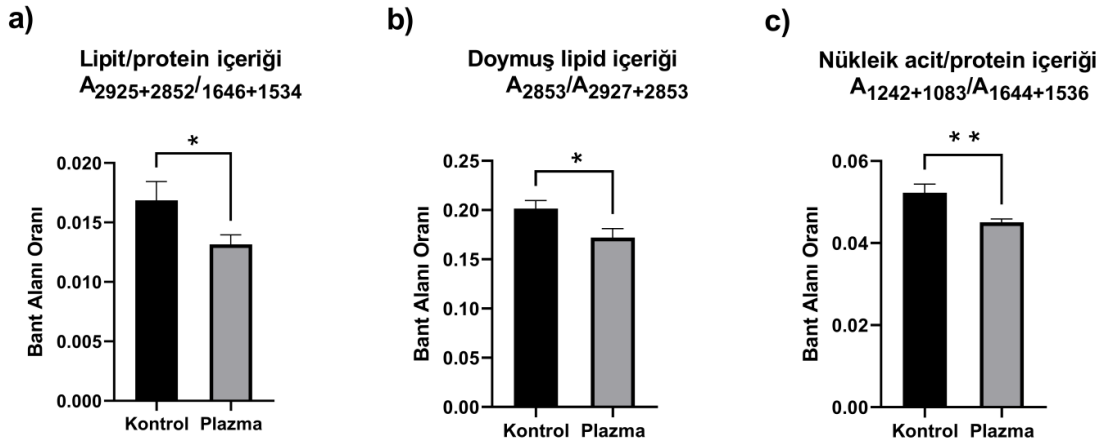
3.2 Spektrokimyasal Band Analizi

Kontrol ve AO gruplarının ileum örnekleri için ortalama spektrumlar (tam kızılötesi bölge / 4000-650 cm⁻¹), birçok spektrokimyasal bantta görünür değişiklikleri göstermektedir. Her bir bant, biyomoleküllerin belirli fonksiyonel gruplarıyla ilişkilidir. Beer-Lambert yasasına göre, ilgili molekülün belirli bir fonksiyonel grubundan kaynaklanan kızılötesi emilim bantlarının yoğunluğu ve/veya alanı, o molekülün konsantrasyonuyla doğrudan orantılıdır. Bu nedenle, biyomoleküller hakkında göreceli konsantrasyon bilgisi elde etmek için bantların altındaki alanları kullandık (Ceylani ve ark., 2022). İleumdaki AO ile ilişkili farklılaşmanın olası kökenini açıklamak için, biyomoleküllerdeki farklı fonksiyonel gruplara bağlı FTIR spektral bantlardaki değişiklikler hesaplandı. Bu bağlamda, bant alanları, bant alanı oranları ve bant genişlikleri gibi spektral parametreler, lipitler, proteinler ve nükleik asitlerde meydana gelen moleküler değişikliklerin aydınlatılması için analiz edilmiştir.



Şekil 3.3 İleum dokuları için çeşitli spektrokimyasal parametrelerdeki nicel değişiklikler. a) protein fosforilasyonu için indeks (A₁₂₄₁/A₂₉₆₇), b) protein fosforilasyonu (A₁₀₈₃/A₁₅₃₄), c) protein karbonilasyonu (A₁₇₄₃/A₁₅₃₆), d) amid-I protein konsantrasyonları (A₁₆₄₄+A₁₅₃₆).

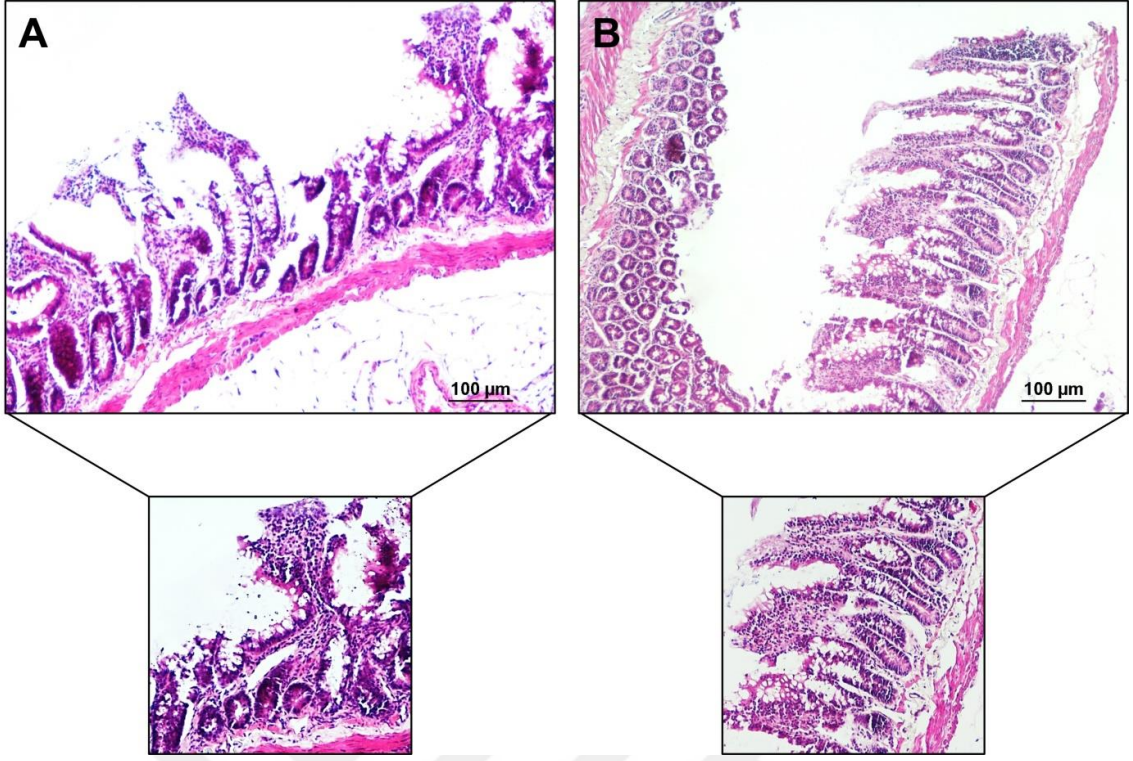
İleumda farklı biyomoleküllerle ilgili spektrokimyasal göstergelerdeki nicel değişikliklerin ölçümü, yaşlı ratlara genç plazma transferinden sonra protein fosforilasyon indeksleri (A1241/A2967 ve A1083/A1534 oranları) %13-38 azaldı bulundu (Şekil F3a-b). Genç plazma transferinden sonra yaşlı ratlarda protein karbonilasyon indeksi (A1743/A1536) %29 azaldı (Şekil F3c). İleum dokularında genç plazma transferinden sonra amid protein konsantrasyonlarında (A1644+1536) %14 artış bulundu (Şekil 3Fd). Lipit/protein (A2927+2853/A1644+1536) ve doymuş lipit (A2853/A2927+2853) içeriklerinde sırasıyla %21 ve %14 azalma olduğunu görüldü (Şekil 4Fa-b). Yaşlı ratlara genç plazma transferinden sonra nükleik asit/protein içeriği için spektral indeks (A1242+1083/A1644+1536) %13 azaldı (Şekil 4Fc).



Şekil 3.4 İleum dokuları için çeşitli spektrokimyasal parametrelerdeki nicel değişiklikler. a) lipid/protein içeriği (A₂₉₂₇₊₂₈₅₃/A₁₆₄₄₊₁₅₃₆), b) doymuş lipid içeriği için indeks (A₂₉₅₃/A₂₉₂₇₊₂₈₅₃), c) nükleik asit/protein içeriği (A₁₂₄₂₊₁₀₈₃/A₁₆₄₄₊₁₅₃₆).

3.3 Histopatoloji Analizi

Yaşlı kontrol grubu sıçanlarının ileum örneklerinin H&E boyama değerlendirmesinde, enterositler arasında gelişen boşluklarla birlikte, bağırsak villuslarının yüksekliklerinin ve goblet hücrelerinin azaldığı görülmüştür. Mukozadaki lamina propria'da intraepitelyal yoğun lenfatik infiltrasyon alanları hâkimdi. İleuma ait yüzey epitel hücrelerinin yapılarının bozulmasıyla birlikte kısa, küt ve geniş villuslar belirgindi. Ayrıca kriptlerin tabanındaki paneth hücre yoğunluklarında bir azalma olduğu tespit edildi (Şekil F5A).



Şekil 3.5 İleum kesitlerinin gruplardaki H&E boyamasının temsili görüntüleri ve lenfatik infiltrasyon alan fraksiyonu (%)nin niceliksel analizi; A) Kontrol, B) Plazma.

Genç plazma verilen gruptaki hayvanların ileum örneklerinin H&E boyalı kesitlerinde ise, belirgin fırça kenarlı epitel hücreleri ve goblet hücrelerinin yanında absortif hücrelerin de olduğu uzun ve ince villuslu mukoza hâkimdi. Lamina propria'da bir miktar intraepitelyal lenfatik infiltrasyon alanları tespit edildi. Villusların tabanındaki bağırsak kriptleri, mukozal lamina propria ile çevriliydi. Kriptlerin tabanında bazale doğru yerleşik koyu boyanmış nükleuslara ve asidofilik (eozinofilik) sitoplazmaya sahip paneth hücreleri yoğunluğunda bir miktar artış tespit edildi. Ek olarak, goblet hücre yoğunluğunda belirgin bir artış görüldü (Şekil F5B).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bağırsak epiteli, metabolitler, kommensal bakteriler, bağışıklık tepkileri ve yaşla ilgili stres faktörleri gibi çeşitli kaynaklardan gelen sinyalleri entegre etme konusunda önemli bir rol oynamaktadır (Funk ve ark., 2020). Yaşlanma, bağırsak bariyerinde değişikliklere yol açabilir ve bu da yaşa bağlı bozukluklar üzerinde lokal ve sistemik etkilere katkıda bulunabilir (Man ve ark., 2015; Ceylani ve ark., 2022). Birçok çalışma yaşlanmaya bağlı doku ve organ bozulmalarını araştırmış olsa da, genç kan plazmasının yaşlanan bağırsak dokusunun yapısı üzerindeki etkisi daha fazla araştırmayı gerektirmektedir. Bu çalışmanın bulguları, genç plazma transfüzyonunun, yaşlı ratların bağırsak bariyeri fonksiyonları ve biyomoleküler yapı üzerinde potansiyel olarak iyileştirici etkileri olduğunu göstermiştir. Spesifik olarak, occludin ve zona-occludin protein seviyelerinde önemli bir artış ve protein fosforilasyon ve karbonilasyon indekslerinde bir azalma, bu transfüzyonun biyomoleküler yapıyı yeniden şekillendirebileceğine işaret etmektedir. Dahası, genç plazma verilen yaşlı ratların ileumunda villus yapısında ve goblet hücre yoğunluğunda gözlemlenen iyileşmeler, bağırsak bariyeri fonksiyonlarında potansiyel bir iyileşme olduğunu düşündürmektedir. Bu bulgular, genç plazma transfüzyonunun yaşlanmayla ilişkili bağırsak bozukluklarını önleme veya tersine çevirme potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir.

Yaşlanmanın bağırsak geçirgenliğinde azalmaya yol açtığı ve bu durumun genel sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir (Tran and Greenwood-Van Meerveld, 2013). Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan önceki çalışmalar, yaşlanmanın bağırsak bariyerinin bütünlüğünü bozduğunu göstermiştir (Parrish, 2017). Zonula okludens (ZOs), okludinler, kloudinler ve bağlantısal adezyon molekülleri (JAMs) gibi sıkı bağlantı proteinleri, bağırsak geçirgenliğinin korunmasından sorumludur (Chelakkot ve ark., 2018). Bu çalışmada Wester Blot analizleri zone-occludin seviyelerinde önemli derecede artış olduğunu gösterdi. Ayrıca spektrokimyasal veriler, genç plazma transferinden sonra protein içeriğinde önemli artış olduğunu gösterdi. Sıkı bağlantı proteinlerinin bolluğundaki değişiklikler, genç plazma transferinden sonra değişen protein profillerine katkıda bulunan faktörlerden biri olabilir. Bununla birlikte, sıkı bağlantı proteinlerinin düzeyleri üzerindeki plazma değişiminin etkisi hakkında daha fazla veri, daha doğru bir yorum için gereklidir. Epitelyal dokudaki çeşitli hücreler de bariyer bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar. Örneğin, bağırsak epitelyal dokusundaki goblet hücreleri mukus üretir ve

koruyucu bir tabaka oluşturur (Peterson and Artis, 2014). Bu hücreler, yaşlanmayla birlikte replikasyon sırasında biriken hücrel ve DNA hasarı nedeniyle rejeneratif kapasiteleri azalan bağırsak kök hücrelerinden türetilir (Liu and Rando, 2011). Genç plazma, bağırsak kök hücrelerinin diğep epitelyal hücrelere farklılaşma yeteneğini doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilir ve böylece bağırsak bariyer fonksiyonunun yeniden sağlanmasına katkıda bulunabilir. Bu çalışmada elde edilen histolojik verilerde de goblet hücre sayısında önemli derecede artış olduğu görülmekte.

Bu çalışmada ayrıca, genç plazma transferinden sonra ileumda protein fosforilasyonunun azaldığı gözlenmiştir. Protein fosforilasyonu, gen ifadesi, metabolizma, farklılaşma ve hücre döngüsü düzenlemesi gibi çeşitli hücrel süreçleri etkileyen önemli bir post-translasyonel modifikasyondur (Lee ve ark., 2019). Proteinler, asetilasyon, metilasyon veya fosforilasyon gibi spesifik konformasyonel durumlarına bağlı olarak çeşitli fonksiyonlar gerçekleştirir. Aynı modifikasyonun farklı iki noktadaki etkisi bir proteini farklı şekillerde etkileyebilir. Bazı protein fosforilasyon siteleri protein aktivitelerini aktive ederken, diğepileri inhibitör etki gösterebilir. Bu nedenle, bir proteinin fonksiyonel düzenlemesi, belirli sitelerdeki kalıntıların eklenmesi veya çıkarılması gibi birçok şekilde değiştirilebilir (Wang and Wang, 2019). İleumda genç plazma transferinden sonra protein fosforilasyonunun azalmasının tam olarak ne anlama geldiğinin kesin bir şekilde belirlenmesi için proteomik gibi daha kapsamlı bir yaklaşım gereklidir. Proteomik, plazma transferinin etkilediğı spesifik proteinleri ve fosforilasyon sitelerini tanımlama ve nicelendirme imkanı sağlar. Bu bilgi, genç plazma transferinin yenileyici etkilerinin ileum dokuları üzerindeki etkilerinin moleküler mekanizmalarını anlamamıza yardımcı olabilir ve yaşlanma sürecinde plazma değişimi ile gastrointestinal sağlık arasındaki ilişkinin anlaşılmasını derinleştirebilir.

Bağırsak epitelyal dokusu, işlevini sürdürebilmek için sürekli yenilenmeye ihtiyaç duyar. Ancak yaşlanma, epitelyal rejenerasyonu bozar ve koruyucu rolünü tehlikeye atar (Nicoletti, 2015). Genç kan plazmasının GDF11, TIMP2, Oksitosin ve Osteokalsin gibi birçok yaşlanma karşıtı metabolit içerdiği bildirilmiştir (Castellano, 2019), bu da yenileyici etkilerine katkıda bulunabilir. Genç plazma ile tedavi edildikten sonra yaşlanma belirteçleri olan ferrik indirgeme yeteneğı (FRAP), plazma membran redoks sistemi (PMRS) aktivitesi, GSH, malondialdehit (MDA) seviyeleri ve protein karbonilasyon (PCO) düştüğü gösterilmiştir (Tripathi ve ark., 2021). Protein karbonilasyonu, oldukça zararlı ve geri dönüşü olmayan bir oksidatif protein

modifikasyonu olup, oksidatif stresle ilişkili bozuklukların önemli bir göstergesi olarak kabul edilir (Fedorova ve ark., 2014). Oksidatif stresin çeşitli yaşla ilişkili durumlarda rol oynaması göz önüne alındığında, genç plazma transferinden sonra yaşlı ileum dokularında gözlenen PCO değerlerindeki önemli azalma yenileyici bir etki olarak yorumlanabilir.

İleum dokularındaki biyomoleküler değişiklikler ve villus yapısındaki ve goblet hücre yoğunluğundaki iyileşmeler, genç plazma faktörlerinin epitel hücrelerinin yeniden oluşumunu teşvik ettiğini göstermektedir. Yaşlanma sürecinde önemli bir rol oynayan faktörlerden biri otofaji sistemidir. Bu mekanizma, hücre içinde birikmiş olan proteinler ve hasarlı DNA gibi biyomoleküllerin atık benzeri bir durumda temizlenmesini sağlar. Otofajinin hücrelerde tetiklenmesinin belirli bir açlık süresi gerektirdiği bildirilmesine rağmen (Paoli ve ark., 2019), genç kan plazmasının yaşlanmış karaciğer dokusunda bu mekanizmayı aktive ettiği gözlenmiştir (Liu ve ark., 2019). Genç kan plazma transfüzyonu sonrasında tetiklenen otofaji sistemi, yaşlı ratların ileum dokusundaki biyomolekül profilini genç ratlarinkine daha benzer bir hale getirebilir. Plazma değişimi sonrası yapılan kantitatif spektrokimyasal analizlerden elde edilen veriler, bu durumu destekler niteliktedir. Öte yandan, ileum, ince bağırsakların son bölümüdür ve temel olarak B12 vitamini ve safra tuzlarını emer (Inomata ve ark., 2005). Doymamış yağ asitlerinin endoplazmik retikulum fonksiyonunu artırdığı, doymuş yağ asitlerinin ise zar esnekliğini azaltarak fonksiyonunu bozduğu gösterilmiştir (Shen ve ark., 2017). Bu nedenle, genç plazma transfüzyonundan sonra ileum dokusundaki doymuş lipid miktarının azalması, hücrelerin yeniden oluşumunun bir göstergesi olabilir. Bu durum, genç plazma transfüzyonunun, yaşlanmanın neden olduğu biyomoleküler yapı bozukluklarını düzeltebileceğine dair bir işaret olarak değerlendirilebilir.

Genç plazma alan yaşlı ratların bağırsak dokusundaki biyomolekül profilini etkileyen bir diğer önemli faktör, bağırsak mikrobiyotasındaki kommensal bakteri popülasyonları olabilir. Bağırsak mikrobiyotasının yaşlanma ile bozulduğu ve bu durumun disbiyozis adı verilen bir durumla ilişkili olduğu bilinmektedir, bu da irritabl bağırsak sendromu gibi birçok hastalıkla ilişkilidir (Odamaki ve ark., 2016; Teker and Ceylani, 2022). Bağırsak mikrobiyotası ile bağırsak epitelyumu arasında sadece bir mukus tabakası bulunmaktadır (Gallo and Hooper, 2012). Bağırsak mikrobiyotasının en önemli özelliklerinden biri, değişen parametrelere hızlı bir şekilde yanıt verebilen dinamik yapısıdır (Ji ve ark., 2020). Yakın zamanda tamamlanan bir çalışma, genç

plazma transferinin 12 aylık Wistar farelere uygulandığında bağırsak mikrobiyotasında tür çeşitliliğinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir (Ceylani and Teker, 2022). Ayrıca, sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasının göstergesi olarak kabul edilen Firmicutes-Bacteroidetes oranında belirgin bir normalleşme gözlenmiştir. Bu filumlar içinde yer alan türler, butirat, asetat ve propiyat gibi kısa zincirli yağ asitleri üretmekte olup, aynı zamanda bağırsak epitelyal hücrelerin temel besin kaynaklarıdır (Gallo and Hooper, 2012; Klement and Paziienza, 2019). Ayrıca, bu çalışmada kullanılan ileum dokularının elde edildiği ratların bağırsak mikrobiyota profillerinin incelenmesi sonucunda, genç plazmanın yaşlı ratlara transferinin alfa çeşitlilik indekslerini önemli ölçüde artırdığı ve Firmicutes-Bacteroidetes oranını belirgin bir şekilde azalttığı görülmüştür. Buna karşılık, genç ratlara yaşlı plazma transferi, tür çeşitliliğinde belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Genç plazmanın, yaşlanan bağırsak mikrobiyotasının daha sağlıklı teşvik eden bir kompozisyona yeniden yapılandırılmasını tetiklediği, yaşlı plazma transferinin ise genç ratların bağırsak mikrobiyotasında disbiyozise neden olduğu bulunmuştur (Ceylani ve ark., 2023). Ayrıca, epitelyumda yer alan Paneth hücreleri tarafından üretilen antimikrobiyal peptitler, bağırsak mikrobiyotasındaki patojen türlerin yok edilmesini sağlar. Bu peptitler, bağırsak mikrobiyotasının alfa çeşitliliğini kontrol ederek, bağırsak epitelyal doku rejenerasyonunu ve bütünlüğünü korumaya da yardımcı olabilir (Mergaert, 2018; Zhang ve ark., 2018). Sonuç olarak, bağırsak mikrobiyotası, plazma değişimi sonrasında bağırsak geçirgenliğine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Genel olarak, bu bulgular genç plazma transfüzyonunun, yaşlanmanın etkilerini hafifletebilecek potansiyel bir yol olduğunu düşündürmektedir.

4.1 Sonuç

Bu çalışma, genç plazma transfüzyonunun yaşlanan bağırsak dokusunda ve bağırsak bariyeri işlevlerinde olumlu etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Western blot analizleri, genç plazma transfüzyonu sonrasında sıkı bağlantı proteinleri olan occludin ve zona-occludin seviyelerinde artış olduğunu ortaya koydu. Ayrıca, FTIR spektroskopi analizleri, genç plazma transfüzyonu sonrasında protein fosforilasyon ve karbonilasyon indekslerinde azalma, amid protein ve paneth hücre yoğunluğunda ise artış olduğunu gösterdi. Bu değişiklikler, genç plazma transfüzyonunun, yaşlanma sürecinin bağırsak dokusunda neden olduğu biyomoleküler yapı bozukluklarını iyileştirebileceğini düşündürmektedir. Histopatolojik inceleme, genç plazma verilen

yaşlı ratların ileumunda villus yapısında ve goblet hücre yoğunluğunda iyileşme olduğunu gösterdi.

Bu bulgular ışığında, genç plazma transfüzyonu yaşlanmanın neden olduğu bağırsak bozukluklarının hafifletilmesi veya tersine çevrilmesi için potansiyel bir strateji olabilir. Ancak, bu bulguların insanlarda uygulanabilirliğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, genç plazma transfüzyonunun yaşlı ratlarda gözlenen olumlu etkilerinin mekanizmalarını daha ayrıntılı bir şekilde incelemek önemlidir. Bu bilgiler, genç plazma transfüzyonunun yaşlanmanın etkilerini nasıl hafifletebileceğine dair daha fazla anlayış sağlayacak ve yaşlanma ile ilişkili hastalıkların önlenmesi veya tedavisi için yeni stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.



KAYNAKLAR

- Anderson, J. M. ve Van Itallie, C. M., 2009, Physiology and function of the tight junction. 23(8), 203-209.
- Adomshick V, Pu Y, Veiga-Lopez A. 2020. Automated lipid droplet quantification system for phenotypic analysis of adipocytes using CellProfiler. Toxicol Mech Methods. 30(5):378–387.
- Aicardi G. 2018. Young Blood Plasma Administration to Fight Alzheimer’s Disease? Rejuvenation Res. 21(2):178–181.
- Anonim, 2021, Geçirgen bağırsak sendromu diyeti, İlaçsız Yaşıyoruz, <https://ilacsizyasiyoruz.com/diyetler/gecirgen-bagirsak-diyeti/> [Erişim Tarihi: 02/02/2022].
- Anonymous, 2016, Intestinal permeability, Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Intestinal_permeability#:~:text=Intestina%20permeability%20is%20a%20term,the%20rest%20of%20the%20body. [Erişim Tarihi: 02/02/2022].
- Anonymous, 2018, Tight junction, Wikipedia, https://en.wikipedia.org/wiki/Tight_junction#:~:text=Tight%20junctions%2C%20also%20known%20as,seals%20between%20the%20epithelial%20cells. [Erişim Tarihi: 02/02/2022].
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Bork, P., 2011, Enterotypes of the human gut microbiome. Nature, 473(7346), 174-180.
- Avoli, M. ve Krnjević, K., 2016, The Long and Winding Road to Gamma-Amino-Butyric Acid as Neurotransmitter. Can J Neurol Sci, 43(2), 219-226.
- Banerjee, S., Sousa, A. D. ve Bhat, M. A., 2006, Organization and function of septate junctions. Cell Biochemistry and Biophysics, 46(1), 65-77.
- Betrapally, N. S., Gillevet, P. M. ve Bajaj, J. S., 2016, Changes in the intestinal microbiome and alcoholic and nonalcoholic liver diseases: causes or effects? Gastroenterology, 150(8), 1745-1755. e1743.
- Biedermann, L., Zeitz, J., Mwinyi, J., Sutter-Minder, E., Rehman, A., Ott, S. J., Scharl, M., 2013, Smoking cessation induces profound changes in the composition of the intestinal microbiota in humans. PloS one, 8(3), e59260.
- Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., Wells, J. M., 2014, Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. BMC Gastroenterol, 14, 189.

- Brandtzaeg, P., 2011, The gut as communicator between environment and host: immunological consequences. *European journal of pharmacology*, 668, S16-S32.
- Bron, P. A., Kleerebezem, M., Brummer, R. J., Cani, P. D., Mercenier, A., MacDonald, T. T., Wells, J. M., 2017, Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? *Br J Nutr*, 117(1), 93-107.
- Camilleri, á., Madsen, K., Spiller, R., Van Meerveld, B. ve Verne, G., 2012, Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology and Motility*, 24(6), 503-512.
- Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M. ve Owen, L. J., 2015, Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis*, 26, 26191.
- Castellano JM. 2019. Blood-Based Therapies to Combat Aging. *Gerontology*. 65(1):84–89.
- Castellano JM, Mosher KI, Abbey RJ, McBride AA, James ML, Berdnik D, Shen JC, Zou B, Xie XS, Tingle M, ve ark. 2017. Human umbilical cord plasma proteins revitalize hippocampal function in aged mice. *Nature*. 544(7651):488–492.
- Ceylani T, Allahverdi H, Teker HT. 2023. Role of age-related plasma in the diversity of gut bacteria. *Arch Gerontol Geriatr*. 111:105003. doi:<https://doi.org/10.1016/j.archger.2023.105003>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167494323000821>.
- Ceylani T, Taner H, Samgane G, Gurbanov R. 2022. Intermittent fasting-induced biomolecular modifications in rat tissues detected by ATR-FTIR spectroscopy and machine learning algorithms. *Anal Biochem*. 654(February):114825.
- Ceylani T, Teker HT. 2022. The effect of young blood plasma administration on gut microbiota in middle-aged rats. *Arch Microbiol*. 204(9):541.
- Chelakkot C, Choi Y, Kim D-K, Park HT, Ghim J, Kwon Y, Jeon J, Kim M-S, Jee Y-K, Gho YS, ve ark. 2018. Akkermansia muciniphila-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions. 282.
- Conese M, Carbone A, Beccia E, Angiolillo A. 2017. The Fountain of Youth: A Tale of Parabiosis, Stem Cells, and Rejuvenation. *Open Med (Warsaw, Poland)*. 12:376–383.
- Chimeno-Küstner, E., Giovannoni, M. L. ve Schemel-Suárez, M., 2017 Dysbiosis as a determinant factor of systemic and oral pathology: importance of microbiome. *Med Clin (Barc)*, 149(7), 305-309.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R., Shanahan, F., Cryan, J., 2013, The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular psychiatry*, 18(6), 666-673.

- Clarke, S. F., Murphy, E. F., O'Sullivan, O., Lucey, A. J., Humphreys, M., Hogan, A., Cotter, P. D., 2014, Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*, 63(12), 1913-1920.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W. ve Knight, R., 2012, The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- Cresci, G. A., & Bawden, E., 2015 Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nutr Clin Pract*, 30(6), 734-746.
- DeGruttola, A. K., Low, D., Mizoguchi, A. ve Mizoguchi, E., 2016, Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflamm Bowel Dis*, 22(5), 1137-1150.
- Del Chierico, F., Vernocchi, P., Petrucca, A., Paci, P., Fuentes, S., Pratico, G., Russo, A., 2015, Phylogenetic and metabolic tracking of gut microbiota during perinatal development. *PloS one*, 10(9), e0137347.
- Dethlefsen, L. ve Relman, D. A., 2011, Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 Suppl 1(Suppl 1), 4554-4561.
- Drakes, M., Blanchard, T. ve Czinn, S., 2004, Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun*, 72(6), 3299-3309.
- Ding J, Kopchick JJ. 2011. Plasma biomarkers of mouse aging. *Age (Omaha)*. 33(3):291–307.
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., Lapetra, J., 2018, Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *New England journal of medicine*, 378(25), e34.
- Falk, S. ve Campieri, M., 2002, Inflammatory bowel disease : a clinical case approach to pathophysiology, diagnosis, and treatment, proceedings of the Falk Symposium 122, held in Bologna, Italy, June 22-23, 2001, Dordrecht; London.
- Fasano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A. ve Goldblum, S. E., 2000, Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet*, 355(9214), 1518-1519.
- Fedorova M, Bollineni RC, Hoffmann R. 2014. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. *Mass Spectrom Rev*. 33(2):79–97.
- Funk MC, Zhou J, Boutros M. 2020. Ageing, metabolism and the intestine. *EMBO Rep*. 21(7):1–22.
- Garcia-Castillo, M. D., Chinnapen, D. J. ve Lencer, W. I., 2017, Membrane Transport across Polarized Epithelia. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 9(9).

- Gianotti, R. J. ve Moss, A. C., 2016, The Use and Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation for Refractory *Clostridium difficile* in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, 22(11), 2704-2710.
- Greenwood-Van Meerveld, B., Johnson, A. C. ve Grundy, D., 2017, Gastrointestinal Physiology and Function. *Handb Exp Pharmacol*, 239, 1-16.
- Guo, P., Weinstein, A. M. ve Weinbaum, S., 2003, A dual-pathway ultrastructural model for the tight junction of rat proximal tubule epithelium. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 285(2), F241-F257.
- Gallo RL, Hooper L V. 2012. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat Rev Immunol*. 12(7):503–516.
- Horowitz AM, Fan X, Bieri G, Smith LK, Sanchez-Diaz CI, Schroer AB, Gontier G, Casaletto KB, Kramer JH, Williams KE, ve ark. 2020. Blood factors transfer beneficial effects of exercise on neurogenesis and cognition to the aged brain. *Science*. 369(6500):167–173.
- Huang Q, Ning Y, Liu D, Zhang Ying, Li D, Zhang Yinping, Yin Z, Fu B, Cai G, Sun X, ve ark. 2018. A Young Blood Environment Decreases Aging of Senile Mice Kidneys. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 73(4):421–428.
- Higashi, T. ve Miller, A. L., 2017, Tricellular junctions: how to build junctions at the TRICkiest points of epithelial cells. *Mol Biol Cell*, 28(15), 2023-2034.
- Hills, R. D., Pontefract, B. A., Mishcon, H. R., Black, C. A., Sutton, S. C. ve Theberge, C. R., 2019, Gut microbiome: profound implications for diet and disease. *Nutrients*, 11(7), 1613.
- Hollander, D. ve Kaunitz, J. D., 2020, The "Leaky Gut": Tight Junctions but Loose Associations? *Dig Dis Sci*, 65(5), 1277-1287.
- Iebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., Schippa, S., 2016, Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *New Microbiol*, 39(1), 1-12.
- Inomata T, Ninomiya H, Mizutani T, Mori Y, Kashiwazaki N, Kiuchi A, Nagai T. 2005. A simple method of intestinal anastomosis (Ileocolostomy) in rats. *Exp Anim*. 54(2):117–122.
- Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, Katus H. 2000. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation*. 102(11):1216–1220.
- Ji BW, Sheth RU, Dixit PD, Tchourine K, Vitkup D. 2020. Macroecological dynamics of gut microbiota. *Nat Microbiol*. 5(5):768–775.
- Jethwani, P. ve Grover, K., 2019, Gut microbiota in health and diseases—a review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 8(8), 1586-1599.

- Katsimpardi L, Litterman NK, Schein PA, Miller CM, Loffredo FS, Wojtkiewicz GR, Chen JW, Lee RT, Wagers AJ, Rubin LL. 2014. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. *Science*. 344(6184):630–634.
- Keskin S, Acikgoz E, Ertürk FY, Ragbetli MC, Ozkol H. 2023. Histopathological Changes in Liver and Heart Tissue Associated with Experimental Ultraviolet Radiation A and B Exposure on Wistar Albino Rats. *Photochem Photobiol*. 99(1):132–136.
- Klement RJ, Paziienza V. 2019. Impact of Different Types of Diet on Gut Microbiota Profiles and Cancer Prevention and Treatment. *Medicina (Kaunas)*. 55(4).
- Kadooka, Y., Sato, M., Imaizumi, K., Ogawa, A., Ikuyama, K., Akai, Y., Tsuchida, T., 2010, Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *European journal of clinical nutrition*, 64(6), 636-643.
- Kelly, C. J., Zheng, L., Campbell, E. L., Saeedi, B., Scholz, C. C., Bayless, A. J., Magnuson, A., 2015 Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell host and microbe*, 17(5), 662-671.
- Kim, S. K., Guevarra, R. B., Kim, Y. T., Kwon, J., Kim, H., Cho, J. H., Lee, J. H., 2019, Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J Microbiol Biotechnol*, 29(9), 1335-1340.
- Kirschner, N. ve Brandner, J. M., 2012, Barriers and more: functions of tight junction proteins in the skin. *Ann N Y Acad Sci*, 1257, 158-166.
- Koszewicz, M., Jaroch, J., Brzecka, A., Ejma, M., Budrewicz, S., Mikhaleva, L. M., Aliev, G., 2021, Dysbiosis is one of the risk factor for stroke and cognitive impairment and potential target for treatment. *Pharmacol Res*, 164, 105277.
- LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D. ve Ventura, M., 2013, Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*, 24(2), 160-168.
- Lin, L. ve Zhang, J., 2017, Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC immunology*, 18(1), 1-25.
- Liu, W. Y., Wang, Z. B., Zhang, L. C., Wei, X. ve Li, L., 2012, Tight junction in blood-brain barrier: an overview of structure, regulation, and regulator substances. *CNS Neurosci Ther*, 18(8), 609-615.
- Luissint, A. C., Artus, C., Glacial, F., Ganeshamoorthy, K. ve Couraud, P. O., 2012, Tight junctions at the blood brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. *Fluids Barriers CNS*, 9(1), 23.

- Lv, G., Cheng, N. ve Wang, H., 2017, The gut microbiota, tumorigenesis, and liver diseases. *Engineering*, 3(1), 110-114.
- Lee CR, Park YH, Min H, Kim YR, Seok YJ. 2019. Determination of protein phosphorylation by polyacrylamide gel electrophoresis. *J Microbiol.* 57(2):93–100.
- Lehallier B, Gate D, Schaum N, Nanasi T, Lee SE, Yousef H, Moran Losada P, Berdnik D, Keller A, Verghese J, ve ark. 2019. Undulating changes in human plasma proteome profiles across the lifespan. *Nat Med.* 25(12):1843–1850.
- Liu A, Yang J, Hu Q, Dirsch O, Dahmen U, Zhang C, Gewirtz DA, Fang H, Sun J. 2019. Young plasma attenuates age-dependent liver ischemia reperfusion injury. *FASEB J.* 33(2):3063–3073.
- Liu L, Rando TA. 2011. Manifestations and mechanisms of stem cell aging. *J Cell Biol.* 193(2):257–266.
- Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, Gannon J, Pancoast JR, Yalamanchi P, Sinha M, Dall’Osso C, Khong D, Shadrach JL, ve ark. 2013. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. *Cell.* 153(4):828–839.
- Ma S, Wang S, Ye Y, Ren J, Chen R, Li W, Li J, Zhao L, Zhao Q, Sun G, ve ark. 2022. Heterochronic parabiosis induces stem cell revitalization and systemic rejuvenation across aged tissues. *Cell Stem Cell.* 29(6):990-1005.e10.
- Man AL, Bertelli E, Rentini S, Regoli M, Briars G, Marini M, Watson AJM, Nicoletti C. 2015. Age-associated modifications of intestinal permeability and innate immunity in human small intestine. *Clin Sci.* 129(7):515–527.
- Mergaert P. 2018. Role of antimicrobial peptides in controlling symbiotic bacterial populations. *Nat Prod Rep.* 35(4):336–356.
- Middeldorp J, Lehallier B, Villeda SA, Miedema SSM, Evans E, Czirr E, Zhang H, Luo J, Stan T, Mosher KI, ve ark. 2016. Preclinical Assessment of Young Blood Plasma for Alzheimer Disease. *JAMA Neurol.* 73(11):1325–1333. Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D. ve Weaver, C. T., 2012, Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*, 489(7415), 231-241.
- Mohajeri, M. H., La Fata, G., Steinert, R. E. ve Weber, P., 2018, Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutr Rev*, 76(7), 481-496.
- Montiel-Castro, A. J., González-Cervantes, R. M., Bravo-Ruiseco, G., & Pacheco-López, G., 2013, The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates, health and sociality. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7.
- Morrison, D. J. ve Preston, T., 2016, Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut microbes*, 7(3), 189-200.

- Nath, S. G. ve Raveendran, R., 2013, Microbial dysbiosis in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, 17(4), 543-545.
- Nishino, K., Nishida, A., Inoue, R., Kawada, Y., Ohno, M., Sakai, S., Andoh, A., 2018, Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*, 53(1), 95-106.
- Parlak, L. ve Dikmen, D., 2020, Gıda kaynaklı hastalıklarda intestinal mikrobiyotanın önemi. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 77(4).
- Paturi, G., 2007, Probiotic characteristics of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus paracasei* and their effects on immune response and gene expression in mice.
- Pendyala, S., Walker, J. M. ve Holt, P. R., 2012, A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. *Gastroenterology*, 142(5), 1100-1101. e1102.
- Ray, K., 2018, Gut microbiota: Filling up on fibre for a healthy gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 15(2), 67.
- Rogers, G. B., Keating, D. J., Young, R. L., Wong, M. L., Licinio, J. ve Wesselingh, S., 2016, From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry*, 21(6), 738-748.
- Rosenfeld, C. S., 2015, Microbiome disturbances and autism spectrum disorders. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(10), 1557-1571.
- Ruiz, M., 2006, Sıkı bağlantı, Wikipedia https://tr.wikipedia.org/wiki/S%C4%B1k%C4%B1_ba%C4%9Flant%C4%B1 [Erişim Tarihi: 02/02/2022].
- Ruiz, M., 2008, İnsan sindirim sistemi, Wikipedia https://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0nsan_sindirim_sistemi [Erişim Tarihi: 02/02/2022].
- Scaldaferri, F., Pizzoferrato, M., Gerardi, V., Lopetuso, L. ve Gasbarrini, A., 2012, The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *Journal of clinical gastroenterology*, 46, S12-S17.
- Schirmer, M., Franzosa, E. A., Lloyd-Price, J., McIver, L. J., Schwager, R., Poon, T. W., Lake, K., 2018, Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nature microbiology*, 3(3), 337-346.
- Schneeberger, E. E. ve Lynch, R. D., 2004, The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286(6), C1213-1228.
- Schnorr, S. L., Candela, M., Rampelli, S., Centanni, M., Consolandi, C., Basaglia, G., Severgnini, M., 2014, Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nature communications*, 5(1), 1-12.

- Serino, M., Luche, E., Gres, S., Baylac, A., Bergé, M., Cenac, C., Klopp, C., 2012, Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota. *Gut*, 61(4), 543-553.
- Shafran, I. ve Johnson, L. K., 2005, An open-label evaluation of rifaximin in the treatment of active Crohn's disease. *Curr Med Res Opin*, 21(8), 1165-1169.
- Shapira, M., 2016, Gut microbiotas and host evolution: scaling up symbiosis. *Trends in ecology and evolution*, 31(7), 539-549.
- Sheflin, A. M., Whitney, A. K. ve Weir, T. L., 2014 Cancer-promoting effects of microbial dysbiosis. *Curr Oncol Rep*, 16(10), 406.
- Sherwin, E., Rea, K., Dinan, T. G. ve Cryan, J. F., 2016, A gut (microbiome) feeling about the brain. *Current opinion in gastroenterology*, 32(2), 96-102.
- Smith, M. B., Kelly, C. ve Alm, E. J., 2014, Policy: How to regulate faecal transplants. *Nature*, 506(7488), 290-291.
- Surawicz, C. M., McFarland, L. V., Elmer, G. ve Chinn, J., 1989, Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with vancomycin and *Saccharomyces boulardii*. *Am J Gastroenterol*, 84(10), 1285-1287.
- Tamboli, C. P., Neut, C., Desreumaux, P. ve Colombel, J. F., 2004, Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut*, 53(1), 1-4.
- Tomasello, G., Mazzola, M., Leone, A., Sinagra, E., Zummo, G., Farina, F., Carini, F., 2016 Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 160(4), 461-466.
- Vangay, P., Ward, T., Gerber, J. S. ve Knights, D., 2015, Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. *Cell Host Microbe*, 17(5), 553-564.
- Villanueva-Millán, M., Perez-Matute, P. ve Oteo, J., 2015, Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. *Journal of physiology and biochemistry*, 71(3), 509-525.
- Vuitton, D. A. ve Dalphin, J.-C., 2017, From farming to engineering: the microbiota and allergic diseases. *Engineering*, 3(1), 98-109.
- Weiss, G. A. ve Hennet, T., 2017, Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. 74(16), 2959-2977.
- Windey, K., De Preter, V. ve Verbeke, K., 2012 Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol Nutr Food Res*, 56(1), 184-196.

- Wischmeyer, P. E., McDonald, D. ve Knight, R., 2016, Role of the microbiome, probiotics, and 'dysbiosis therapy' in critical illness. *Curr Opin Crit Care*, 22(4), 347-353.
- Xuan, C., Shamonki, J. M., Chung, A., Dinome, M. L., Chung, M., Sieling, P. A. ve Lee, D. J., 2014, Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer. *PLoS One*, 9(1), e83744.
- Yan, J., Herzog, J. W., Tsang, K., Brennan, C. A., Bower, M. A., Garrett, W. S., Charles, J. F., 2016, Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(47), E7554-E7563.
- Zheng, P., Zeng, B., Liu, M., Chen, J., Pan, J., Han, Y., Wang, H., 2019, The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice. *Science*
- Nicoletti C. 2015. Age-associated changes of the intestinal epithelial barrier: local and systemic implications. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 9(12):1467–1469.
- Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, Abe F, Osawa R. 2016. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: A cross-sectional study. *BMC Microbiol*. 16(1):1–12.
- Paoli A, Tinsley G, Bianco A, Moro T. 2019. The influence of meal frequency and timing on health in humans: The role of fasting. *Nutrients*. 11(4):719. doi:10.3390/nu11040719.
- Parrish AR. 2017. The impact of aging on epithelial barriers. *Tissue barriers*. 5(4):e1343172.
- Peterson LW, Artis D. 2014. Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 14(3):141–153.
- Rebo J, Mehdipour M, Gathwala R, Causey K, Liu Y, Conboy MJ, Conboy IM. 2016. A single heterochronic blood exchange reveals rapid inhibition of multiple tissues by old blood. *Nat Commun*. 7:1–11.
- Scudellari M. 2015. Ageing research: Blood to blood. *Nature*. 517(7535):426–429.
- Shen Y, Zhao Z, Zhang L, Shi L, Shahriar S, Chan RB, Paolo G DI, Min W. 2017. Metabolic activity induces membrane phase separation in endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 114(51):13394–13399.
- Smith LK, He Y, Park JS, Bieri G, Snelhage CE, Lin K, Gontier G, Wabl R, Plambeck KE, Udeochu J, ve ark. 2015. B2-Microglobulin Is a Systemic Pro-Aging Factor That Impairs Cognitive Function and Neurogenesis. *Nat Med*. 21(8):932–937.
- Sridharan G, Shankar AA. 2012. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol*. 16(2):251–255.

- Taner H, Taha T, Seda C, Gizem K, Sina S, Burcu M. 2023. Age - related differences in response to plasma exchange in male rat liver tissues: insights from histopathological and machine - learning assisted spectrochemical analyses. *Biogerontology*.(789).
- Teker HT, Ceylani T. 2022 Aug. Intermittent fasting supports the balance of the gut microbiota composition. *Int Microbiol.*:doi: 10.1007/s10123-022-00272-7.
- Tran L, Greenwood-Van Meerveld B. 2013. Age-associated remodeling of the intestinal epithelial barrier. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 68(9):1045–1056.
- Tripathi SS, Kumar R, Arya JK, Rizvi SI. 2021a. Plasma from Young Rats Injected into Old Rats Induce Antiaging Effects. *Rejuvenation Res*. 24(3):206–212.
- Tripathi SS, Kumar R, Arya JK, Rizvi SI. 2021b. Plasma from Young Rats Injected into Old Rats Induce Antiaging Effects. *Rejuvenation Res*. 24(3):206–212.
- Vidal B de C, Mello MLS. 2019. Toluidine blue staining for cell and tissue biology applications. *Acta Histochem*. 121(2):101–112.
- Villeda SA, Luo J, Mosher KI, Zou B, Britschgi M, Bieri G, Stan TM, Fainberg N, Ding Z, Eggel A, ve ark. 2011. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature*. 477(7362):90–94.
- Villeda Saul A., Plambeck KE, Middeldorp J, Castellano JM, Mosher KI, Luo J, Smith LK, Bieri G, Lin K, Berdnik D, ve ark. 2014. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice. *Nat Med*. 20(6):659–663.
- Villeda Saul A, Plambeck KE, Middeldorp J, Castellano JM, Mosher KI, Luo J, Smith LK, Bieri G, Lin K, Berdnik D, ve ark. 2014. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice. *Nat Med*. 20(6):659–663.
- Wang R, Wang G. 2019. Protein Modification and Autophagy Activation. *Adv Exp Med Biol*. 1206:237–259. doi:10.1007/978-981-15-0602-4_12.
- Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, Noseworthy JH, Lucchinetti CF, Dodick DW, Pineda AA, Stevens LN, Rodriguez M. 1999. A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol*. 46(6):878–886.
- Wilmanski T, Rappaport N, Earls JC, Magis AT, Manor O, Lovejoy J, Omenn GS, Hood L, Gibbons SM, Price ND. 2019. Blood metabolome predicts gut microbiome α -diversity in humans. *Nat Biotechnol*. 37(10):1217–1228.
- Yu Z, Kastenmüller G, He Y, Belcredi P, Möller G, Prehn C, Mendes J, Wahl S, Roemisch-Margl W, Ceglarek U, ve ark. 2011. Differences between human plasma and serum metabolite profiles. *PLoS One*. 6(7):e21230.

Zhang G, Li J, Purkayastha S, Tang Y, Zhang H, Yin Y, Li B, Liu G, Cai D. 2013. Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK- β , NF- κ B and GnRH. *Nature*. 497(7448):211–216. doi:10.1038/nature12143.

Zhang L, Hu W, Ho J, Fitzgerald RJ, Gin T, Chan MTV, Wu WKK. 2018. Antimicrobial peptides in the host-microbiota homeostasis. 2-7.

