



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

**STREPTOZOTOSİN ile DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
PREBİYOTİK ve PROBİYOTİK KOMBİNASYONUNUN
KARACİĞER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Sümeyya Asena CAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ash KANDİL**

Ağustos, 2022

İSTANBUL

Bu alışma, 1.08.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr. Öğr. Üyesi Aslı KANDİL(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Cihan DEMİRCİ TANSEL
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Huri BULUT
İstinye Üniversitesi
Tıp Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2020-37104 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında, değerli bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım ve bu süre boyunca her konuda yardımını gördüğüm danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aslı KANDİL'e sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Tezimin çalışmaları süresince desteklerini esirgemeyen, Prof. Dr. Cihan DEMİRCİ TANSEL'e, Doç. Dr. İbrahim SÖĞÜT'e ve Dr. Öğr. Üyesi Savaş ÜSTÜNOVA'ya katkıları için teşekkür ederim.

Tez çalışmalarının uygulama kısmında desteklerini gördüğüm Öğr. Gör. Aysu KILIÇ'a, Biyolog Tarık Taha GÖZDEN'e ve Biyolog Zeynep Ece BULUT'a gösterdikleri ilgi ve emek için teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan benden desteklerini, sevgilerini ve ilgilerini eksik etmeyen, vermiş olduğum her kararı destekleyen sevgili aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ağustos 2022

Sümeyya Asena CAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	2
2.1. DİYABET	2
2.2. KARACİĞER	6
2.3. MİKROBİYOTA	8
2.3.1. Probiyotik	10
2.3.2. Prebiyotik.....	12
2.3.3. Sinbiyotik.....	14
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	16
3.1. IŞIK MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI.....	17
3.1.1. Histolojik Çalışmalar	17
3.1.2. İmmünohistokimyasal Çalışmalar	17
3.2. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR.....	18
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	19
4. BULGULAR.....	21
4.1. KAN GLİKOZ DEĞERLERİNE AİT BULGULAR	21
4.2. VÜCUT AĞIRLIKLARINA AİT BULGULAR.....	22
4.3. IŞIK MİKROSKOBU BULGULARI.....	23
4.3.1. Histolojik Bulgular	23
4.3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	36
4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR.....	59
EKLER	70

5.1.1. Etik kurul Karar Metni	70
ÖZGEÇMİŞ	71



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 4.1:** Deney gruplarına ait kan örneklerinde ölçülen glikoz değerlerinin deney boyunca karşılaştırılması [STZ uygulaması öncesi (-2. gün), STZ uygulamasından 48 saat sonra (deney başlangıcı (1. gün)), 7, 14, 21 ve 28 gün sonra]. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık21
- Şekil 4.2:** Deney gruplarına ait vücut ağırlık değerlerinin deney boyunca karşılaştırılması [STZ uygulaması öncesi (-2. gün), STZ uygulamasından 48 saat sonra (deney başlangıcı (1. gün)), 7, 14, 21 ve 28 gün sonra]. ** $p<0,01$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.22
- Şekil 4.3:** Deney gruplarının karaciğer dokusunda histolojik hasar skorunun gösterilmesi. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++ $p<0,001$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.23
- Şekil 4.4:** Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), portal ven (pv), hepatositler (h), sinüzoidler (s), safra kanalı (sk) ve Kupffer hücreleri (→). a, c) Bar=50 μ m, b, d) Bar=20 μ m, HE.24
- Şekil 4.5:** Kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), portal ven (pv), safra kanalı (sk), hepatositler (h) ve Kupffer hücreleri (→). a) Bar=50 μ m, b) Bar=20 μ m, PAS-H.25
- Şekil 4.6:** Kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), safra kanalı (sk), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a) Bar=50 μ m, b) Bar=20 μ m, Masson'un üçlü boyası.26
- Şekil 4.7:** Diyabet grubuna ait karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv) endotelindeki devamsızlık (►), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→), hepatositler (h), portal ven (pv) ve safra kanalı (sk). a, c) Bar=50 μ m, b, d) Bar=20 μ m, HE.27
- Şekil 4.8:** Diyabet grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv) endotelinde devamsızlık (►), portal alan (pa), sinüzoidler (s), hepatositler (h) ve Kupffer hücreleri (→). a, c) Bar=50 μ m, b, d) Bar=20 μ m, PAS-H.28
- Şekil 4.9:** Diyabet grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), portal ven (pv), portal alan (pa), safra kanalı (sk), hepatositler (h) ve sinüzoidler (s). a-c, e) Bar=50 μ m, d, f) Bar=20 μ m, Masson'un üçlü boyası.29
- Şekil 4.10:** Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→), hepatositler (h), portal ven (pv) ve safra kanalı (sk). a, c) Bar=50 μ m, b, d) Bar=20 μ m, HE.30

Şekil 4.11: Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), hepatositler (h), Kupffer hücreleri (→) ve portal ven (pv). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, PAS-H.	31
Şekil 4.12: Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal alan (pa), merkezi ven (mv), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.....	32
Şekil 4.13: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal alan (pa), portal ven (pv), merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→) ve hepatositler (h). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, HE.....	33
Şekil 4.14: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→) ve hepatositler (h). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, PAS-H.....	34
Şekil 4.15: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), safra kanalı (sk), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.....	35
Şekil 4.16: HSCORE değerlendirilmesine göre deney gruplarında TNF-α reaksiyonu. ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlılık. +p<0,05; Diyabet grubuna göre anlamlılık.	36
Şekil 4.17: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde TNF-α reaksiyonu. Hepatositler (h), merkezi ven (mv) ve sinüzoidler (s). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm.	37
Şekil 4.18: Deney gruplarında HSCORE değerlendirilmesine göre iNOS reaksiyonu. ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,001; Diyabet grubuna göre anlamlılık.	38
Şekil 4.19: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde iNOS reaksiyonu. Hepatositler (h), sinüzoidler (s), merkezi ven (mv). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm.	39
Şekil 4.20: Deney gruplarında HSCORE değerlendirilmesine göre IL-6 reaksiyonu. *p<0,05; Kontrol grubuna göre anlamlılık, +++p<0,001, ++p<0,01; Diyabet grubuna göre anlamlılık.....	40
Şekil 4.21: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde IL-6 reaksiyonu. Hepatositler (h), sinüzoidler (s), merkezi ven (mv), portal ven (pv), safra kanalı (sk). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm.	41
Şekil 4.22: Deney gruplarına ait hayvanların serumlarındaki ALT değerleri. *p<0,05; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++p<0,01; Diyabet grubuna göre anlamlılık.	43
Şekil 4.23: Deney gruplarına ait hayvanların serumlarındaki AST değerleri.	43
Şekil 4.24: Deney hayvanlarına ait hayvanların karaciğer dokularındaki NO değerleri.	44
Şekil 4.25: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında MDA değerleri. ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++p<0,01, +++p<0,001; Diyabet grubuna göre anlamlılık.....	45

Şekil 4.26: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında TOS değerleri. *p<0,05, ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++p<0,01; Diyabet grubuna göre anlamlılık.....	46
Şekil 4.27: Deney gruplarının karaciğer dokularında TAS değerleri.	47
Şekil 4.28: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında OSI düzeyleri. ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++p<0,01; Diyabet grubuna göre anlamlılık.	48



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
►	: Endotelde devamsızlık
→	: Kupffer hücreleri
®	: Tescilli marka
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
µmol	: Mikromol
°C	: Santigrat
dL	: Desilitre
eq/L	: Litre başına eşdeğer
g	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
KCl	: Potasyum klorür
kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
NO	: Nitrit oksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
β	: Beta

Kısaltmalar	Açıklama
AEC	: 3-amino-9-etilkarbazol
AIF	: Apoptozu indükleyen faktör
ALT	: Alaninamino transferaz
Ang II	: Angiotensin II
AOPP	: İleri oksidasyon protein ürünleri
AST	: Aspartatamino transferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
BH4	: (6R)-5,6,7,8-tetrahidrobiyopterin
CRP	: C-reaktif protein
DM	: Diabetes mellitus
ELISA	: Enzim bağlı immün assay
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
GLP	: Glukagon benzeri peptid
h	: Hepatositler
HE	: Hematoksilin-eozin
ICAM-1	: Hücre içi adezyon molekülü-1
IL	: İnterlökin
IPEX	: X'e bağlı immünregülasyon, poliendokrinopati, enteropati sendromu
i	: Reaksiyon yoğunluğu
iNOS	: Uyarılabilir nitrik oksit sentaz
ip	: İntraperitoneal
LADA	: Latent otoimmün diyabet
LPS	: Lipopolisakkarit
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malondialdehid
mRNA	: Haberci ribonükleik asit
mv	: Merkezi ven
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAYKH	: Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı
NFκB	: Nükleer faktör kappa B
OSI	: Oksidatif stres indeksi

PAR	: Poli ADP-riboz
PARP-1	: Nükleer enzim poli (ADP-riboz) polimeraz-1
PAS	: Periyodik asit-Schiff
PBS	: Fosfat tamponu
Pi	: Reaksiyon veren hücrelerin yüzdesi
PKC	: Protein kinaz C
pv	: Portal ven
ROT	: Reaktif oksijen türleri
s	: Sinüziodler
SCFA	: Kısa zincirli yağ asitleri
sICAM-1	: Çözünür adezyon proteini ICAM-1
sk	: Safra kanalı
SOD	: Süperoksit dismutaz
STZ	: Streptozotosin
T1D	: Tip I diyabet
T2D	: Tip II diyabet
TAS	: Total antioksidan durumu
TLR	: Toll like reseptör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
TOS	: Total oksidan durumu
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STREPTOZOTOSİN ile DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA PREBİYOTİK ve PROBİYOTİK KOMBİNASYONUNUN KARACİĞER ÜZERİNE ETKİLERİ

Sümeyya Asena CAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ashı KANDİL

Diyabet, dünya çapında yaygın bir metabolik hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Bağırsakta mikrobiyom homeostazında meydana gelecek bir dengesizliğin zararlı olabileceği ve bağırsak disbiyozunun diyabetin patogenezi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Prebiyotik ve probiyotik uygulamasının bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunda ve fonksiyonlarında önemli olduğu belirlenmiştir. Prebiyotik ve probiyotik kombinasyonları olan sinbiyotiklerin diyabetin patogenezindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan hayvanlarda prebiyotik ve probiyotik kombinasyonu olan bir sinbiyotiğinin karaciğer üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, deney hayvanı olarak, 32 adet 2,5 aylık erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar Kontrol, Diyabet, Diyabet+ Sinbiyotik ve Sinbiyotik grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. STZ (60 mg/kg) uygulanarak diyabet oluşturulan hayvanlara 28 gün boyunca Probien® isimli sinbiyotik uygulandı. Deney hayvanlarının ağırlıkları ve kan glikoz seviyeleri, deney başlangıcından itibaren deney sonuna kadar bir hafta aralıklarla belirlendi. Anestezi altındaki hayvanlardan, biyokimyasal analizler için kalpten kan alındı. Ek olarak, ışık mikroskobu ve biyokimyasal çalışmalar için karaciğer örnekleri alındı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda STZ uygulanan diyabetik grupta kontrol grubuna göre kan glikoz düzeylerinin arttığı, vücut ağırlıklarının ise deney sonunda azaldığı belirlendi. Bu grupta karaciğerde kontrole göre belirgin hasarın olduğu, sinüzoidlerin genişlediği, merkezi ven endotellerinde düzensizliklerin, bazı portal alanlarda inflamasyonun ve bağ doku artışının olduğu görüldü. Ayrıca serumda, ALT değerinin arttığı AST değerinin ise değişmediği belirlendi. Dokuda iNOS, TNF- α ve IL-6'nın reaksiyonun, MDA, TOS ve OSI değerlerinin arttığı TAS ve NO değerlerinin değişmedi belirlendi.

Diyabet +Sinbiyotik grubunda diyabete göre kan glikoz değerlerini 21. günde azaldığı, vücut ağırlıklarının ise deney sonunda arttığı görüldü. Sinbiyotik uygulamasının doku hasarını önemli ölçüde azalttığı, ancak kontrole göre halen belirgin bir hasarın olduğu tespit edildi. ALT, AST ve OSI değerlerinin kontrole benzer olduğu, iNOS, TNF- α ve IL-6 reaksiyonlarının MDA ve TOS seviyelerinin azaldığı, TAS ve NO değerlerinin değişmediği belirlendi.

Sinbiyotik grubunda, kontrole göre dokuda hasarın olduğu, iNOS, TNF- α ve IL-6' reaksiyonlarının arttığı belirlenmesine karşın, kan glikoz değerleri, vücut ağırlıkları, AST, ALT, TAS, NO, MDA, TOS ve OSI değerlerinin kontrole benzer olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda, probiyotik ve prebiyotik kombinasyonu olan sinbiyotik uygulamasının diyabette kan glikozu ve vücut ağırlığı üzerinde etkilerinin olduğu, karaciğer hasarının, dokuda artan inflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stresin azalmasına neden olduğu, dolayısıyla elde ettiğimiz bulgularımız, sinbiyotik uygulamasının diyabette görülen komplikasyonlar üzerinde etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Ağustos 2022, .87. sayfa.

Anahtar kelimeler: Diyabet, Sinbiyotik, Karaciğer

SUMMARY

M.Sc. THESIS

THE EFFECTS OF PREBIOTIC and PROBIOTIC COMBINATION ON THE LIVER IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Sümeyya Asena CAN

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Aslı KANDİL

Diabetes is a common metabolic disease worldwide. The imbalances in gut microbiota homeostasis may be detrimental and gut microbiota dysbiosis may be involved in the pathogenesis of diabetes. The prebiotic and probiotic applications are substantial in the composition and functions of the intestinal microbiota. The effects of synbiotics, which are combinations of prebiotics and probiotics, on the pathogenesis of diabetes are not fully understood. This study aims to investigate the effects of a synbiotic, which is a combination of prebiotics and probiotics, on the liver in animals that are induced diabetes mellitus by the administration of streptozotocin (STZ).

For our study, 32 2.5-month-old male rats were used as experimental animals. Animals were divided into 4 groups as Control, Diabetes, Diabetes+ Synbiotic and Synbiotic group. Animals that induced diabetes by administering STZ (60 mg/kg STZ) were treated with a synbiotic called Probien® for 28 days. The blood glucose levels and weights of the experimental animals were determined at one-week intervals from the beginning of the experiment to the end of the experiment. From the animals under anesthesia, blood was taken from the heart for biochemical analysis. In addition, the livers of animals were harvested for light microscopy and biochemical studies. The data were evaluated statistically.

It was detected that blood glucose levels increased in the diabetic group treated with STZ compared to the control group, and body weights decreased at the end of the experiment. In this group, it has been observed that there was significant damage to the liver compared to the control, sinusoids enlarged, irregularities in the central vein endothelium, inflammation and increase in connective tissue in some portal areas. In addition, it was determined that the ALT value in the serum increased, while the AST value did not change. The reaction of iNOS, TNF- α and IL-6, MDA, TOS and OSI values increased in tissue, TAS and NO values did not change.

In the diabetes+synbiotic group, the blood glucose values decreased by the 21st day and the body weight have increased at the end of the experiment. It has been determined that the application of synbiotic significantly decreased the tissue damage, however, there is still significant damage when compared to the control group. Also, it has been detected that ALT, AST and OSI values remain similar to that of the control group while iNOS, TNF- α and IL-6 reactions, MDA and TOS levels decreased, and that TAS and NO values remained unchanged.

In the synbiotic group, it has been determined that blood glucose levels, body weights, AST, ALT, TAS, NO, MDA, TOS and OSI values were found to be similar to the control group. However, it has been detected that tissue damage and the increment in the iNOS, TNF- α and IL-6 reactions compared to the control group.

In conclusion, in our study, synbiotic administration, which is a combination of probiotics and prebiotics, had effects on blood glucose and body weight in diabetes and also caused a decrease in inflammatory cytokines, oxidative stress and liver damage. Therefore, our findings show that synbiotic application may have effects on complications in diabetes.

August 2022, .87. pages.

Keywords: Diabetes, Synbiotic, Liver

1. GİRİŞ

Bu çalışma, streptozotosin ile oluşturulan diyabetik hayvanlarda prebiyotik ve probiyotik kombinasyonu olan probien sinbiyotiğın karaciğer üzerine olan etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Tezin “Genel Kısımlar” bölümünde diyabet, bağırsak mikrobiyotası ve karaciğer ilişkisinden bahsedilmiş, prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin etkileriyle ilgili bilgi verilmiştir.

Tezin “Malzeme ve Yöntem” bölümünde, güncel literatürlerden elde edilen bilgilerin verildiği genel kısımlardaki bilgilere dayanarak oluşturulan deney modeli, hayvan sayıları ile özellikleri ve uygulanan maddeler verilerek gruplar ayrıntılı bir şekilde belirtilmiştir. Ayrıca bu bölümde, yapılan histolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal çalışmalara ayrıntılı bir şekilde yer verilmiştir.

Tezin “Bulgular” bölümünde, deney gruplarından alınan örneklerde yapılan biyokimyasal, ışık mikroskobu ve immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda elde edilen veriler ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tezin “Tartışma ve Sonuç” kısmında, çalışmadan elde edilen sonuçlar mevcut çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak yorumlanmış ve bir sonuca varılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. DİYABET

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonunun yokluğuna veya dokuların insüline duyarlılığında azalmaya bağlı olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarının bozulması ile karakterize edilen metabolik bir bozukluktur (Hall ve Guyton, 2011). DM, Dünya Sağlık Örgütü tarafından, kusurlu insülin sekresyonuna ve/veya etkisine neden olan çeşitli durumların herhangi birinden kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir sendrom olarak tanımlanır (Rodriguez-Saldana, 2019). Diyabetin klasik ve en sık görülen belirtileri, hiperglisemi, poliüri (idrara çıkmada artış), polidipsi (susuzluk artışı) ve polifaji (artan açlık) şeklinde sıralanabilir (Cooke ve diğ. 2008). Diyabette, serum glikoz konsantrasyonunun belirgin şekilde artmasıyla günler veya haftalar sonra poliüri, polidipsi ve kilo kaybı görülür. Keton cisimleri de belirgin insülin eksikliği nedeniyle artar, ciddi ve hayatı tehdit eden asidoz (diyabetik ketoasidoz) ile sonuçlanır (Banasik ve Copstead-Kirkhorn, 2012). Zamanla diyabet, çoklu organ sistemlerinde hasara ve fonksiyon bozukluklarına sebep olabilir. Damarlarda meydana gelen bozukluklar, diyabette görülen doku ve fonksiyon bozukluklarının ana nedenleri arasında yer alır. Hem mikrovasküler bozuklukların neden olduğu retinopati, nefropati ve nöropati gibi hastalıklar, hem de makrovasküler bozuklukların neden olduğu koroner arter ve periferik vasküler hastalıklar gibi rahatsızlıklar diyabetle ilişkili yüksek morbidite ve mortalite oranlarına katkıda bulunur (Banasik ve Copstead-Kirkhorn, 2012).

Diyabet, nedenleri ve seyrine göre çeşitli tipler halinde sınıflandırılabilir (Silbernagl ve Lang, 2010). Tip I diyabet (T1D), insülin sekresyonunun yokluğuna bağlıdır ve insüline bağımlı diyabet olarak da adlandırılır. Tip II diyabet (T2D), insülinin hedef dokularda metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir ve insüline bağımlı olmayan diyabet olarak da adlandırılır. Bu azalmış duyarlılığa, insülin rezistansı veya direnci denir (Hall ve Guyton, 2011; Silbernagl ve Lang, 2010). Gebelik diyabeti, daha önce diyabet geçmişi olmayan hamile kadınlarda yüksek kan şekeri seviyeleri ile ortaya çıkan, doğumdan sonra düzelebilen ve kaybolan diyabet tipidir (Damasceno ve diğ. 2014). Her iki tip diyabette, ana besin maddelerinin metabolizmaları değişmiştir. İnsülin yokluğunun veya insülin rezistansının glikoz metabolizmasına başlıca etkisi, glikozun birçok hücre tarafından alınmasının ve kullanılmasının engellemesidir. Sonuç olarak, kan glikoz konsantrasyonu artar, glikozun

kullanımı giderek azalır, yağların ve proteinlerin kullanımı artar (Hall ve Guyton, 2011; Silbernagl ve Lang, 2010). T1D, pankreasın beta (β) hücrelerinin hasara uğradığı veya insülin yapımının bozulduğu, β hücre antijenlerini hedefleyen T lenfositleri tarafından pankreatik β hücrelerin seçici olarak yok edilmesinden kaynaklanan otoimmün bir hastalıktır (Hall ve Guyton, 2011). T1D, her yaşta ortaya çıkabilir, ancak 2, 4-6 ve 10-14 yaşlarında daha sık görülmektedir (Banasik ve Copstead-Kirkhorn, 2012). T1D, primer diyabet vakalarının % 5-10'unu oluşturan tip T2D'den daha az yaygındır. Çevresel faktörler ve genetik yatkınlık T1D'nin en önemli nedenleri arasındadır (Rewers ve diğ. 2018). Bu çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar, antibiyotikler, genç yaşta tahıl veya inek sütü proteinlerinin tüketimi, azalmış vitamin alımı veya endojen sentezi, emzirme eksikliği, mevsimsel değişiklikler, endokrin bozucu kimyasallara maruz kalma ve diğer diyet faktörlerini içermektedir (Mishra ve diğ. 2019). T1D'nin iki formu vardır. En yaygın olanı tip 1A diyabettir. Nadir görülen formu ise tip 1B diyabettir ve idiyopatikdir. Genellikle T1D olarak adlandırılan tip 1A diyabet, β hücrelerinin bağışıklık aracılı yok edilmesi ile karakterizedir (Porth ve Grossman, 2014). Daha önce genç diyabet olarak adlandırılan bu tip diyabet, gençlerde daha sık görülmekle birlikte her yaşta ortaya çıkabilir. İmmün aracılı tip 1A, ayrıca üç alt kategoriye ayrılabilir. Poligenik tip 1 diyabet, iki veya daha fazla genetik lokusu içerir ve tip 1 vakaların % 80 ila % 90'ını oluşturur. Tip 1 diyabetin monogenik nedenleri nadirdir ve IPEX (X'e bağlı immünregülasyon, poliendokrinopati, enteropati sendromu) ile ilişkilidir. T1D'in son alt grubu yetişkinlerde görülür ve latent otoimmün diyabet (LADA) olarak adlandırılır. LADA, tüm diyabet vakalarının % 2 ile % 12'sini oluşturur ve tipik olarak 35 yaşından sonra teşhis edilir (Banasik ve Copstead-Kirkhorn, 2012).

Hiperglisemik mikro çevre altında insüline bağımlı olmayan dokudaki elektron taşıma zincirinde elektron taşınması, mitokondride elektron sızıntısına ve süperoksit üretimine yol açar (Rodriguez-Saldana, 2019). Diyabette aşırı reaktif oksijen türleri (ROT)'nin üretimi, vücutta ROT üretiminde enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidan mekanizmalarında dengesizliğe neden olarak endojen antioksidan savunma mekanizmalarını alt eder ve sonuçta vücutta oksidatif strese yol açar. Mitokondride ROT üretimine ek olarak, ksantin oksidaz, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz dahil olmak üzere diğer ROT kaynakları tanımlanmıştır (Rodriguez-Saldana, 2019). Artmış ROT seviyeleri, zarlardaki lipidler (lipid peroksidasyonu), enzimler ve nükleik asitler gibi makromoleküllerin oksidatif modifikasyonunu indükler. Lipid peroksidasyonu sonucunda,

malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal ürünleri oluşur (Rodriguez-Saldana, 2019). Proteinlerin oksidatif modifikasyonları (karbonilasyon, moleküller arası ditirozin çapraz bağlama, tiyol oksidasyonu, vb.), nefropati ve aterosklerozun ilerlemesine bağlı ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP)'nin oluşumuna yol açar. AOPP, nötrofilleri ve monositleri aktive eder ve NADPH oksidazın aracılık ettiği nükleer faktör kapp B (NFκB) aktivasyonu yoluyla inflamasyonu indükler (Rodriguez-Saldana, 2019). DNA hasarı, nükleer enzim poli (ADP-riboz) polimeraz 1 (PARP-1)'in aşırı aktivasyonuna yol açar. PARP-1, ADAD-ribozu nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)'den transfer ederek poli ADP-riboz (PAR) ve nikotinamid oluşumuna yol açar, NAD⁺ ve ATP seviyelerindeki azalma, enerji sisteminde problemlere ve hücre nekrozuna neden olur. PAR tarafından indüklenen hücre ölümü mekanizması yakın zamanda açıklanmıştır. PAR, mitokondriden apoptozu indükleyen faktör (AIF)'ün salınımını indükler ve AIF, yakın zamanda keşfedilen bir nükleaz aktivitesine sahip bir protein olan makrofaj inhibitör faktörüne bağlanır. Bu kompleks nukleusa taşınır ve kaspazdan bağımsız tipte bir apoptoz, parthanatoslar ile DNA parçalanması ve hücre ölümü ile sonuçlanır (Rodriguez-Saldana, 2019). PARP'nin aktivasyonu ayrıca inflamatuvar bir duruma yol açar, çünkü PARP-1, interlökin (IL)-1β ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-α) dahil olmak üzere proinflamatuvar faktörlerin anlatımını teşvik eder (Rodriguez-Saldana, 2019).

İnflamasyon, oksidatif stres ve çeşitli faktörler tarafından indüklenir ve birçok hastalıkta yaygın bir patofizyolojik özelliktir. Diyabet, diyabetik hastalarda ve deneysel hayvanlarda proinflamatuvar sitokinlerin (TNF-α) serumdaki seviyelerinin artışı ile kanıtlanmış kronik bir proinflamatuvar durumla ilişkilidir (Rodriguez-Saldana, 2019). Bununla birlikte, oksidatif strese duyarlı ve inflamatuvar araçların anlatımını düzenleyen transkripsiyon faktörü olan NFκB, T2D hastasının (Rodriguez-Saldana, 2019) dolaşımdaki lenfositlerinde ve diyabetik hayvanlardaki (böbrek, kalp) çeşitli dokularda aktive olmaktadır (Rodriguez-Saldana, 2019). NFκB, oksidatif stres, TNF-α veya angiotensin II (Ang II) ile aktive edilir ve IL-6, IL-1β, TNF-α ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) gibi proinflamatuvar sitokinler dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar ilişkili genlerin anlatımını düzenler. Ayrıca NFκB, proinflamatuvar eikosanoidlerin sentezini kontrol eden bir enzim olan siklooksijenaz-2'nin anlatımını indükler. Ang II, diyabetik komplikasyonlarda inflamasyonun altında yatan ana mekanizma olduğu düşünülen renin-angiotensin sisteminin önemli bir aracısıdır. Ang II, NFκB'nin aktivasyonunu ve başlıca TNF-α, IL-1β ve IL-6 sitokinleri olmak üzere proinflamatuvar araçların sentezini ve salınmasını uyarır. TNF-α, makrofaj göçü ve IL-6'nın sentezini ve salgılanmasını indükler; IL-

6 da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan C-reaktif protein (CRP)'in üretimini ve salgılanmasını uyarır (Goldberg, 2009). TNF- α , lökositlerin endotel yüzeyine birikmesi ve endotel fonksiyonunun bozulmasına yol açan hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi endotelde MCP-1 ve hücrel adezyon moleküllerinin anlatımını indükler. Endotel boyunca göç eden fazla sayıdaki lökositler, endotel hasarına, böbrekte inflamasyona, nefropatiye ve retinopatinin karakteristiği olan kan retinal bariyerinin yok olmasına neden olur. IL-1 β , süperoksit radikali (O_2^-) ile reaksiyona girdiğinde peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturan, inflamatuvar yanıtı güçlendiren ve nitrozoaktif stres üreten nitrik oksit (NO)'in aşırı üretimine neden olan uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) anlatımını uyarır (Rodriguez-Saldana, 2019)

Endotel, diyabetik komplikasyonların gelişiminde anahtar bir dokudur. Damar duvarındaki endotel hasarı, inflamatuvar sitokinlerin ve NO eksikliğinin endotelial disfonksiyonun meydana gelmesinde büyük rol oynadığı inflamatuvar bir reaksiyon olarak başlar (Rodriguez-Saldana, 2019). Endoteldeki fonksiyon bozuklukları, vazodilatasyonu azaltarak ve proinflamatuvar ile protrombotik durumlara karşı vasküler özelliklerin kontrolünü değiştirebilir. Azalmış vazodilatasyon, hiperglisemi ve oksidatif stres koşullarında NO'nun süperoksit radikali ile peroksinitrit oluşturan reaksiyonuyla uyarılan NO eksikliği veya azalmış NO mevcudiyeti ile ilişkilidir (Li ve diğ. 1998). Endotelde NO sentezleyen eNOS enzimi, oksidatif stres veya protein kinaz C (PKC) ile artırarak düzenlemesine rağmen (Rodriguez-Saldana, 2019), bu enzim, peroksinitrit ile oksitlenen (6R)-5,6,7,8-tetrahidrobiyopterin (BH4) temel kofaktörünü içermez. Bu kofaktör oksitlendiğinde, eNOS reaksiyonu ayrılır ve NO yerine ROT üretilir, bu da vasküler oksidatif stresi belirgin hale getirir (Hink ve diğ. 2001). PKC inhibitörleri, vasküler endoteldeki eNOS anlatım seviyelerini azaltır. Endotel hasar gördüğünde, endotelial yüzeyden çözünür bir adezyon proteini ICAM (sICAM-1) formu salınır ve plazma konsantrasyonu endotel hasarının bir belirteci olarak değerlendirilir. Diyabetik hastalarda plazma sICAM-1 konsantrasyonu, nefropati sinyalleri ve diyabetik albuminüri görülen hastalarda sICAM-1 artışı gözlenmeden önce artar. Plazma ICAM-1 konsantrasyonları, endotelin vazodilatör fonksiyonu ile negatif olarak ilişkilidir. Oksidatif stres endotelial disfonksiyona katkıda bulunduğundan, AOPP'nin ve sICAM'ın plazma konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (Liang ve diğ. 2014).

2.2. KARACİĞER

Karaciğer, insan vücudunda önemli bir organdır. Erişkin bir bireyin vücut ağırlığının yaklaşık % 2'sini oluşturur (Abdel-Misih ve Bloomston, 2010). Karaciğer, portal venden (yaklaşık % 75) ve hepatik arterden (yaklaşık % 25) beslemesi nedeniyle benzersiz bir organdır. Vücut fonksiyonlarının devamlılığı için oldukça kritiktir ve vücuttaki hemen hemen her sistemle iç içedir. Fonksiyonları arasında, sindirim metabolizmasına etki etmek, bağışıklık sistemine destek olmak, detoksifikasyon ve vitamin depolanması bulunmaktadır (Bogdanos ve diğ. 2013). Bunların yanı sıra, demirin ve bakırın depolanmasında, pıhtılaşma faktörü ve protein sentezinde rol alır. Kupffer hücreleri ve pit hücreleri ile vücudun immün sistemine de önemli katkıda bulunur (Kalra ve diğ. 2022).

Karaciğerin yaklaşık % 67'sini hepatosit isimli karaciğer hücreleri oluşturur. Kalan % 37'lik kısmı ise safra kanalı epitel hücreleri, Ito hücreleri, Kupffer hücreleri ve fibroblastlar gibi hücre tipleri oluşturur. Karaciğerin fonksiyonel birimi ise lobüllerdir. Lobüller altıgen şeklindedir ve her köşesinde bir portal üçlü (portal ven, hepatik arter, safra kanalı) bulunmaktadır (Kalra ve diğ. 2022). Lobüllerin merkezinde ise merkezi ven yer almaktadır. Karaciğere iki büyük damar kan taşımaktadır. Bu damarlardan biri olan hepatik arter, gelen kanın % 20'sini oluşturan oksijence zengin kanı taşırken, kalan % 80'lik kısmı portal venden gelen besince daha zengin kanı oluşturmaktadır (Guyton ve Hall, 2011).

Karaciğerin başlıca metabolik fonksiyonları birkaç ana kategoride özetlenebilir. Vücudumuzdaki karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarının kontrol edilmesinde çok büyük rol oynar. Bunlardan birisi olan karbonhidrat metabolizmasının, kan glikoz seviyesinin dengede tutulması gibi çok önemli görevleri vardır. Karaciğer ve kaslar, tokluk anında glikozu glikojen halinde depo ederler (Chiang, 2014). Açlık ve/veya enerji gereksinimi gibi durumlarda karaciğer depo halindeki glikojeni parçalayarak glikozun tekrar ortaya çıkmasını ve ardından kana geçmesini sağlayarak kan-glikoz seviyesini dengeler. Karaciğerin lipid metabolizmasındaki önemli işlevleri, kolesterol, trigliserid ve fosfolipidler gibi plazma lipidlerinin üretilmesi ve işlenmesidir (Chiang, 2014). Protein metabolizmasında ise taşıma ve albümin, transferrin ve serüloplazmin gibi proteinlerin, proteaz inhibitörlerinin (antitrombin III ve α 1-antitripsin) ve homeostaz proteinlerinin (protrombin ve fibrinojen gibi moleküller) sentezi de karaciğer tarafından yapılmaktadır. Aynı zamanda aminoasit metabolizmasında ve aminoasitlerin deaminasyonunda da görev alır. Karaciğerin bir diğer önemli özelliği ise

eritrositlerin parçalanmasıyla ortaya çıkan hemoglobinlerdeki globulinin taşınması ve atılmasına yardımcı olmaktır (Jain ve diğ. 2011).

Karaciğer ve bağırsağın embriyonik evrede ön bağırsakta aynı kökene sahip olduğu iyi bilinmektedir. Ek olarak, portal sistem aracılığıyla besince zengin kan bağırsaktan karaciğere gelir. Bu nedenle, bağırsak ile karaciğer arasında yakın bir ilişki vardır (Zorn ve diğ. 2009). Bağırsak ve karaciğerin doğrudan venöz bağlantısı, pasif olarak emilen veya aktif olarak taşınan bakterilerin ve ürünlerinin bağırsaktan karaciğere hızlı bir şekilde götürülmesine izin verir. Sonuç olarak, bağırsak mikrobiyotasının miktarı ve bileşimi karaciğerin mikrobiyal maruziyetini etkiler. Sağlıklı bireylerde, bağırsak bariyeri normal olarak bakterilerin portal sistemine girmesini önlediğinden bakteriler karaciğerde nadiren bulunur (Balmer ve diğ. 2014). Karaciğer, fizyolojik koşullar altında bozulmamış bakterilerden yoksun olmasına rağmen, bakteriyel mRNA ve lipopolisakkarit (LPS), karaciğer ve periferik kanda (Brandl ve diğ. 2017) eser miktarlarda kolayca tespit edilebilir, bu da karaciğerin ve diğer organların bunlara sürekli ve fonksiyonel olarak maruz kaldığını gösterir.

Bakteriyel ürünlerin, bağırsaktan portal ve sistemik dolaşıma geçişi diyet faktörlerinden de etkilenir. Örneğin yüksek yağlı bir diyetin, farelerde plazma LPS konsantrasyonunun artışıyla ve bu durum ile tanımlanan metabolik endotoksemiyle ilişki olduğu gösterilmiştir (Brandl ve diğ. 2017). Karaciğer, sadece portal sistemden gelen bağırsak bakterilerinin ve ürünlerinin pasif bir alıcısı değil, aynı zamanda organdaki sayılarını ve sistemik dolaşıma erişimini aktif olarak kontrol eder (Brandl ve diğ. 2017). Bununla birlikte, karaciğer, bağırsak-karaciğer eksen kavramına göre iki yönlü iletişim ile orantılı olarak bağırsak mikropları üzerinde de etkilidir. Karaciğer, safra ve immunoglobulin A antikorlarının üretimi ve salınması yoluyla bağırsaktaki mikrobiyal toplulukları şekillendirir. Bağırsak-karaciğer ekseninin yeterince anlaşılmayan konak-mikrobiyal etkileşimleri kontrol etmekteki başka bir rolü, bağışıklık hücrelerinin farklılaşması ve göçüdür (Brandl ve diğ. 2017). Her ne kadar bağırsak yolu ve karaciğer arasındaki çift yönlü iletişimde mikrobiyotanın önemi anlaşılmaya başlanmış olsa da bu etkileşimlerin ayrıntıları ve sonuçları hakkında öğrenilmesi gereken daha fazla bilinmeyen olduğu aşikârdır.

2.3. MİKROBİYOTA

Diyet ve bağlantılı beslenme durumu, insan sağlığının önemli ve değiştirilebilir faktörlerini tarif etektedir. Başlıca belirleyiciler, bağırsak mikrobiyotası ve genleridir (mikrobiyom) (Lambertz ve diğ. 2017). Buna karşılık, gastrointestinal mikrobiyota konakçının diyetinden oldukça etkilenir. Bağırsak mikrobiyotasının konağın bağışıklık sistemi ile çakışması, insülin direncini ve bağırsak geçirgenliğini düzenleyebilir (Lambertz ve diğ. 2017). Bağırsak mikrobiyotası, bağırsakta yaşayan mikrobiyal popülasyonun kolonizasyonunu ifade ederken, bağırsak mikrobiyomu bağırsak mikrobiyotasındaki genlerin tam bir çeşitliliğidir (Khursheed ve diğ. 2019). İnsan gastrointestinal sisteminde bulunan yaklaşık 100 trilyon mikroorganizma, ağırlıklı olarak bakterilerden oluşmakla birlikte, virüsleri, mantarları ve protozoaları da içermektedir (Cani, 2018). Bu mikrobial sayı o kadar büyük ki mikrobiyom, vücudun en yeni organı olarak düşünülmektedir (Khursheed ve diğ. 2019). Bu mikroorganizmalar boğazımızda, bağırsağımızda hatta cildimiz gibi çeşitli yerlerde bulunmaktadır. Bağırsak mikrobiyomu konakçıya özgüdür, bir bireyin yaşamı boyunca gelişir ve hem ekzojen (antibiyotik kullanımı) hem de endojen (sistemik hastalık) faktörlere karşı hassastır (Grice ve Segre, 2012).

İnsan ve bağırsak mikrobiyotası, hayatta kalabilmeleri birbirine bağlı olduğu için simbiyotik ve mutualist bir ilişkiye sahiptir. Memelilerde, mikrobiyota başlıca dört ana filumdan oluşur: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* (Turnbaugh ve diğ. 2007; Rinninella ve diğ. 2019). Bunlar arasında, tüm bağırsak mikroorganizmalarının neredeyse % 60'ı *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma* ve *Clostridium* gibi gram-pozitif bakteriler olan *Firmicutes*'den gelmektedir. *Bifidobacterium*, gram pozitif bakterileri içeren *Actinobacteria*'ya ait bir başka önemli filumdur (Turnbaugh ve diğ. 2007; Rinninella ve diğ. 2019). Bağırsaktaki bakteri popülasyonunun düzenlenmesi, bazı hastalıklar, ilaçlar, yaş, sigara içme, alkol tüketimi, kırmızı et tüketimi, kaygı düzeyi, diyet ve yaşam tarzı gibi farklı faktörlere bağlı olarak değişmeye devam etmektedir (Rinninella ve diğ. 2019). Bu nedenle, her bireyin kendine özgü bir mikrobiyal kompozisyonu ve miktarı vardır. Doğumdan itibaren aşamalı olarak inşa edilen bu mikroorganizma kompozisyonu, vücudun çeşitli fonksiyonlarını etkiler ve insanlarda fizyolojinin ve metabolizmanın düzenlenmesinden sorumludur. Tipik bağırsak mikrobiyotasının, ilaçların, ksenobiyotiklerin ve besin maddelerinin metabolizmasında, bağışıklığın düzenlenmesinde, karbonhidratların fermantasyonunda,

bağırsak mukozal bariyerinin yapısal bütünlüğünün korunmasında, bağırsak geçirgenliğinin azalmasında ve patojenlere karşı savunmada belirgin rolleri vardır (Bohan ve diğ. 2019).

Mikrobiyota homeostazında meydana gelen spesifik bakteri türlerinin aşırı artması veya tükenmesinden kaynaklanan bir bozulmayı sistemik komplikasyonlar ve hastalıklar takip edebilir (DeGruttola ve diğ. 2016). Mikrobiyal toplulukların kompozisyonundaki disbiyoz olarak da adlandırılan değişiklik, konakçı ve mikroorganizmalar arasında etkileşime yol açabilir (Petersen ve Round, 2014). Bağırsak bakterilerinin kompozisyonundaki bu tür bozukluklar hastalığa yatkınlığa neden olabilir. Disbiyoz, obezite, diyabet ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilidir (Kho ve Lal 2018; Rodriguez-Saldana, 2019). Güncel araştırmalarda, bağırsak mikrobiyal disbiyozunun diyabette ve patogenezinde önemli bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (Rodriguez-Saldana, 2019). Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, sistemik dolaşımda LPS'lerin translokasyonu ile karakterize edilen metabolik endotoksemiye, oksidatif stres ve inflamasyonun obezite ve diyabette indüklenmesini kontrol eder (Cani ve diğ. 2008). Öne sürülen mekanizmalar arasında, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) sentezindeki değişiklikler, sistemik LPS miktarındaki artış ile bağırsak hormonlarının salgılanmasındaki, safra asidi metabolizmasındaki ve dolaşımdaki dallı zincirli aminoasitlerdeki değişiklikleri bulunmaktadır (Davison ve Wischmeyer, 2019; Utzschneider ve diğ. 2016).

Bağırsak mikrobiyotası, *Bacteroidetes* (gram negatif bakteri) ve *Firmicutes* (gram-pozitif bakteri) arasındaki dengeyi koruyarak bağırsak geçirgenliğini düzenler. Bu denge, ayrıca epitel hücrelerine SCFA gibi metabolitleri sağlayarak bağırsak hücrelerinin sağlığını, sıkı bağlantılarını ve mukoza tabakasını korur (Bischoff ve diğ. 2014; Moreira ve diğ. 2012). Bir bireyin sağlığı, bu bakteri türlerinin oranına bağlıdır ve bu orandaki herhangi bir değişiklik bağırsak disbiyozuna ve hastalıklara yol açar. Yüksek yağlı diyet gibi bazı faktörler nedeniyle gram-negatif bakteriler, gram pozitif bakterilere kıyasla oran olarak artmaktadır (Utzschneider ve diğ. 2016). Gram negatif bakteriler, hücre duvarlarında LPS içerir ve artan gram negatif bakteri sayısı sonuçta LPS seviyesinin artmasına neden olur. Bağırsak epitel hücre duvarı bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynayan bütirat üreten gram-pozitif bakterilerin sayısı azalmaktadır (Patterson ve diğ. 2016). Bakteriyel LPS'nin, proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını uyararak metabolik endotoksemiye ve inflamasyona neden olabilir (Bohan ve diğ. 2019). Klinik ve klinik olmayan verilerden, artmış yüksek yağlı diyet alımının bağırsak

mikrobiyotasının fonksiyonlarını düzenleyebildiği ve muhtemelen bağırsak epitel hücrelerinden salınan şilomikronlarda LPS alımıyla dolaşımdaki LPS miktarının artırabileceği görülmüştür (Utzschneider ve diğ. 2016). Ayrıca, yüksek yağlı diyet alımının, sıkı bağlantıların bütünlüğünü koruyan okludinler, klaudinler ve zonula okludenler gibi bazı proteinlerin seviyesini baskıladığı ileri sürülmüştür (Carlson ve diğ. 2018). Bu, sıkı bağlantılar, LPS aracılığıyla toll like reseptör (TLR)-4 yollarının aktivasyonunu içeren bir mekanizma yoluyla bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olur ve böylece “sızdıran bağırsak” ve disbiyozu yol açar (Cox ve diğ. 2017). “Sızdıran bağırsak” terimi, gastrointestinal sistemdeki epitel tabakasının bariyer mekanizmalarının korunmasında rol oynayan sıkı bağlantıların tehlikeye girdiği olaylardan kaynaklanmaktadır (Carlson ve diğ. 2018). LPS, geçirgenliği bozarak kana geçer ve endotoksemi, inflamasyon ve diyabet oluşmasına neden olur (Ghosh ve diğ. 2020).

Bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakteriyel kompozisyondaki değişiklik, DM gelişimi ve patogenezi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. DM’nin iki varyasyonu olan T1D ve T2D, etiyolojileri ve hastalık belirtileri bakımından farklılık gösterirken, her ikisi de bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Opara ve Dagogo-Jack, 2019).

2.3.1. Probiyotik

Kelimenin tam anlamıyla “yaşam için” olarak tercüme edilen probiyotik terimi, hem hayvan hem de insan sağlığı üzerinde yararlı etkiler yapan çeşitli mikroorganizmaları tanımlamaktadır (George Kerry ve diğ. 2018). Probiyotikler, uygun miktarlarda verildiğinde, konakçıya yararlı etkileri kazandırabilen canlı bakteri türleri veya mikroorganizmalardır (Cremon ve diğ. 2018). Probiyotikler, sindirilemeyen bağırsak florasını geliştirme ve değiştirme kabiliyetine sahip olan *Bifidobacteria* ve *Lactobaccilus* gibi belirli bakterilerin tekli veya toplu canlı türlerini içerir (Halkjær ve diğ. 2016).

Bağırsak ekosistemine entegre olan probiyotiklerin oral yoldan verilmesi, bağırsak mikrobiyomunun sağlıklı bir şekilde düzenlenmesinde fonksiyonel olabilir (Kazemi ve diğ. 2019). Son yıllarda diyabet, hipertansiyon (Dong ve diğ. 2013), alerji, viral (Kang ve diğ. 2013), karaciğer ve gastrointestinal hastalıklar (Zhang ve diğ. 2016) ile *Helicobacter pylori* enfeksiyonu (Lü ve diğ. 2016) gibi birçok durumda probiyotiklerin etkileri üzerine odaklanılmış ve çok sayıda araştırma yapılmıştır.

Çeşitli meta-analizlerde, probiyotiklerin diyabet, alkolik olmayan yağ asidi karaciğer hastalığı (NAYKH) (Ma ve diğ. 2013) ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalık koşullarında inflamatuvar belirteçler üzerindeki etkileri incelenmiştir (Pan ve diğ. 2017). Probiyotikler ve sinbiyotikler kronik hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır ve temel olarak bu etkileri bağışıklık sistemi düzenlemekteki rollerinden ve anti-inflamatuvar yanıtta kaynaklanmaktadır (Kazemi ve diğ. 2019). Probiyotiklerin, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığında karaciğer hasarını azaltabileceği ve karaciğer fonksiyonunu iyileştirebileceği gösterilmiştir (Ma ve diğ. 2013). Probiyotikler, zararlı bakterilerin çoğalmasını inhibe edebilir, ince bağırsaklarda aşırı bakteri çoğalmasını azaltabilir, gastrointestinal bariyer işlevini düzeltebilir ve bağışıklık sistemini düzenleyebilir ve bunların tümü NAYKH'nin iyileşmesine katkıda bulunur (Ma ve diğ. 2013).

Dünya Sağlık Örgütü'nün Ekim 2001 tarihli raporunda, probiyotikler yeterli miktarda uygulandığında konağın sağlığına yararı olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (Hill ve diğ. 2014). İnsan sağlığının iyileştirilmesi için bir takım probiyotik türler uzun zamandır kullanılmaktadır (Daliri ve diğ. 2019). Çoğu probiyotik ürün, *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Streptococci* ve *Lactococci*'yi içeren diğer laktik asit bakterileri gibi gram pozitif bakterilerle geliştirilmiştir (de Melo Pereira ve diğ. 2018). Probiyotiklerin içerisinde en yaygın olarak çalışılmış olan bakteriler *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve* ve *Lactobacillus acidophilus* türleridir (Milosevic ve diğ. 2019). Umut verici etkilere sahip diğer probiyotik türleri, *Escherichia*, *Bacillus* ve *Propionibacterium*'un ile başta *Saccharomyces* olmak üzere maya türlerinden oluşur (Aureli ve diğ. 2011). Probiyotiklerin genellikle ciddi yan etkileri yoktur ve insan sağlığı için güvenlidir (Khursheed ve diğ. 2019). Bağışıklık sistemini güçlendirir, kan lipid metabolizmasını düzeltir, oksidatif stresi ve farmakolojik besinlerin diğer fonksiyonlarını azaltırlar (He ve diğ. 2017). *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus acidophilus* ve gibi probiyotiklerin insan çalışmalarında veya hayvan modellerinde insülin rezistansı durumunu iyileştirebileceği ve lipid metabolizmasını düzenleyebildiği gösterilmiştir (de Melo Pereira ve diğ. 2018). Bu probiyotik türler, mikroorganizma popülasyonunu değiştirebilir, bağırsak mikrobiyotasının ekosisteminin işleyişini kontrol edebilir ve diyabetin tedavisine katkıda bulunabilir (Azad ve diğ. 2018).

Probiyotikler, DM tedavisinde farklı mekanizmalarla etkili olabilir. Probiyotiklerin anti-diyabetik etki gösterdiği mekanizmaların birinde, glikoz seviyelerini üzerinde etkili inkretin hormonunun salınımını artıran SCFA (asetat, propiyonat ve bütirat) sentezinin yapılmasıdır

(Kim ve diğ. 2017). Bunlar, ayrıca sıkı bağlantı proteinlerini artırarak bağırsak geçirgenliğini azaltır ve böylece endotoksemi, inflamasyon, insülin resistansı ve glikoz intoleransını azaltır (Utzschneider ve diğ. 2016). Probiyotik uygulamadan sonra, bakteri dengesi yeniden kazanılır, LPS seviyeleri düşer ve böylece bağırsak ve diyabetin disbiyozu tedavi edilebilir (Patel ve DuPont, 2015). Probiyotikler, diğer mikroorganizmaların büyümesini engellemek veya reseptörler ve diğer bağırsak mikroorganizmalarıyla bağlanma yerleri için mücadele eden bazı antimikrobiyal maddeleri ve metabolik bileşikler sentezler (Hemarajata ve Versalovic, 2013).

Lactobacillus suşları, bağışıklık toleransının korunmasına yardımcı olarak bağırsak bariyerinin bütünlüğünü artırır ve bağırsak mukozası boyunca kana bakteriyel translokasyonun azalmasına neden olur (Hemarajata ve Versalovic, 2013). Probiyotikler, ayrıca bağırsak lümenindeki safra asitleri ile etkileşime girerek safra asitlerinin metabolizmasını değiştirir ve sonuç olarak farklı farmakolojik olarak dinamik moleküllerin farmakokinetiğinde bir değişikliğe yol açar. Safra asitlerinin kimyasal değişiklikleri bağırsakta bulunan bakterilere bağlıdır (Pavlović ve diğ. 2012). Bazı çalışmalar, probiyotik alımının, DM hastalarında kan şekeri seviyesinin yükselmesinin önlenmesine veya azaltılmasına yardımcı olabileceğini göstermiştir. Bu etkinin olası nedeni, insülinotropik polipeptitleri ve glukagon benzeri peptid (GLP)-1'i sentezleyerek glikoz emilimini artıran probiyotik bakterilere bağlı bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki değişiklik olabilir (Nikbakht ve diğ. 2018). Enteroendokrin L-hücrelerinde artan GLP-1 ve insülinotropik hormon seviyeleri, karbonhidrat metabolizmasının düzeltilmesine, β hücre hasarını azaltmaya ve hücrenin insüline duyarlılığını artırmaya yardımcı olur (Miraghajani ve diğ. 2017). Probiyotiklerin, interferonlar ve IL-2 veya IL-1 gibi bazı inflamatuvar sitokinlerin aşağı doğru düzenlediği, DM için kullanılan çeşitli hayvan modellerinde anti-inflamatuvar IL-10 sentezini arttırdığı ve DM başlangıcını engellediği bazı çalışmalarda kanıtlanmıştır (Priyadarsini ve diğ. 2015). Probiyotik türlerin birlikte birikme kabiliyeti, patojenik bakteri türlerinin epitel kolonizasyonundan korunmasını sağlayan savunma amaçlı bir barikat oluşturur (Markowiak ve Slizewska, 2017).

2.3.2. Prebiyotik

Prebiyotikler, sindirime dirençli olan ve gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında metabolize edilemeyen veya emilemeyen gıda maddeleridir (Pandey ve diğ. 2019). Bunlar bağırsakta bulunan bakteri türleri tarafından fermente edilir ve sindirim sistemindeki bu yararlı bakterilerin (örneğin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*) iyileştirilmesinde rol oynar (Kim ve

diğ. 2017). Prebiyotiklerin diyet kaynakları, kepekli tahıllar, sarımsak, hindiba kökü, tohumlar, baklagiller, Kudüs enginarı, soğan ve bazı sebzeleri içermektedir (Pandey ve diğ. 2019).

Mevcut prebiyotik tanımına göre “bunlar, konak bakteriler tarafından seçici olarak kullanılan substratlardır”. Günümüzde, spesifik bağırsak mikrobiyol ekolojileri ile obezite ve T2D oluşumu arasında ortaya çıkan bağlantı ışığında, probiyotiklerin yanı sıra prebiyotiklerde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Alfa ve diğ. 2018). İnsan sağlığındaki iyileşme ile ilgili prebiyotiklerin üç özelliğini araştırılmıştır. Bunlar; mide asiditesi direnci, memeli enzimleri tarafından gastrointestinal sistemde emilimi ve hidrolizi, bağırsak mikroflorası ile fermentasyonu ve bağırsak bakterilerinin genişlemesi ve/veya aktivitesinde seçici artışıdır (Gibson ve diğ. 2005). Bu üç prensibi yerine getiren prebiyotikler, sindirilemeyen karbonhidratlar, fruktooligosakkaritler, laktuloz (Laktuloz, kabızlık ve hepatik ensefalopati tedavisinde kullanılan emilemeyen bir şekerdir. Kabızlık için ağızdan ve ağızdan veya hepatik ensefalopati için rektumda kullanılır.) ve galaktooligosakkaritlerdir. Selüloz, pektinler, inülin, sakızlar, dirençli nişasta ve hemiselüloz, emici olmayan alkoller ve şekerler gibi bazı büyük polisakkaritler ve sindirimden kaçan bazı oligosakkaritler sindirilemeyen karbonhidratlar kategorisine girer. *Bifidobacteria*, koloni oluşumunun uyarılmasında rol oynar ve prebiyotiklerin çoğunun sindirimi için gereklidirler (George Kerry ve diğ. 2018). Sonuç olarak, prebiyotikler, özel diyet lifi formlarıdır, probiyotikler, kolonun sağlıklı kalmasına yardımcı olmak için yaşayan bakterilerdir. Özetle, prebiyotikler sindirim sistemimizi sağlıklı tutmak için gerekli olan probiyotik bakterileri beslemektedir.

T2D’yi yönetmek için prebiyotiklerin etkisine yönelik bazı ana mekanizmalar, tercihen kendileri için besin sağlayan (Khurshed ve diğ. 2019) yararlı bakteri türlerini düzenleyerek ve bağırsakta patojenik mikroorganizmaların istenmeyen agregasyonunu azaltarak ve dolayısıyla bağırsak mukozal bütünlüğünü artırarak (Adhikari ve Kim, 2017) bağırsak mikrobiyotasının değişimlerini içerir. Sonuçta bu, patojen bağlanmasını ortadan kaldırır ve bağırsak mikrobiyotasının fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur. Patojenlerin mukoza duvarına bağlanması bazı polisakkaritler tarafından önlenir. Örneğin monooligosakkaritler, tip-1 fimbriaların anlatımını yapan mannoz-spesifik lektinlerine bağlandığında gram negatif bakteriler bağırsaktan atılır (Vallianou ve diğ. 2018). Prebiyotikler, *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* gibi yararlı bakteriler için sindirilmemiş ve emilmemiş diyet kaynağı olarak hizmet eder. Bir çalışmada, düşük miktarda lifle karşılaştırıldığında, yüksek miktarda lif içeren

diyet alımı ile daha yüksek bir bağırsak mikrobik cevabının elde edildiği doğrulanmıştır (Healey ve diğ. 2018). Konağın gastrointestinal sistemde bulunan birçok hücre tipi, bağışıklık sistemi yanıtında kritik bir rol oynar. Bağışıklığın korunması için gerekli olan doğal öldürücü hücreler, T hücreleri ve B hücreleri gibi farklı hücre tipleri, prebiyotiklerden ve bunların fermantasyon süreçleri sırasında üretilen metabolik son ürünlerinden etkilenir (Carlson ve diğ. 2018). Prebiyotiklerin etki ettiği başka bir mekanizma, fermantasyon işlemi sırasında esas olarak propiyonat, bütirat ve asetat olmak üzere SCFA'ların sentezidir (Mohanty ve diğ. 2018). SCFA, bağırsak lümeninin pH'sını düşürür ve metabolik süreçlerin yanı sıra inflamasyonu kontrol eder ve epitel hücrelerine enerji sağlar (Adhikari ve Kim, 2017). SCFA'lar ayrıca epitelin bariyer fonksiyonunun artırılmasında da rol oynar (Adhikari ve Kim, 2017). Oligofruktozun, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonundaki değişiklikleri indükleyerek ve GLP-1 ve GLP-2 seviyelerinde artış sağlayarak bağırsak bariyerinin işlevlerini artırdığı, sıkı bağlantıları iyileştirdiği ve iltihabı azalttığı gösterilmiştir (Cani ve diğ. 2009). Bağırsak bariyerinin bütünlüğündeki iyileşme, LPS seviyelerinin azaltılmasına yardımcı olabilmektedir (Dehghan ve diğ. 2014). Bir çalışmada, T2D'li kadınlarda oligofruktoz ile zenginleştirilmiş inülinin maltodekstrin ile karşılaştırıldığında LPS düzeylerini düşürdüğü bulunmuştur (Dehghan ve diğ. 2014).

2.3.3. Sinbiyotik

Sinbiyotik terimi, prebiyotik ve probiyotik içeriğin bir arada bulunduğu ürünler için kullanılır. Sinbiyotikler, vücuttaki yararlı mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürmelerine ve gelişmelerine destek olmak için geliştirilmiştir. Ayrıca sinbiyotikler, nitrozaminler de dahil olmak üzere istenmeyen metabolitlerin konsantrasyonunu azaltmaya, kanserojenleri inaktive etmeye, çeşitli kabızlık ve ishali önlemeye yardımcı olurlar (González-Herrera ve diğ. 2020). Mevcut çalışmalarda, sinbiyotiklerin insan sağlığı üzerinde tek başına probiyotik ya da prebiyotik kullanımına göre daha faydalı etkileri olduğu ileri sürülmüştür (González-Herrera ve diğ. 2020).

Diyabete yatkınlık kazandıran mekanizmaları tersine çevirmek veya önlemek için yeni yaklaşımların geliştirilmesi kritik öneme sahiptir (Khursheed ve diğ. 2019). Herhangi bir faktör nedeniyle normal bağırsak florasının bakteriyel dengesizliğini ve bozukluklarını düzeltmek gerekir (Daliri ve diğ. 2019). Bunun, probiyotiklerin, prebiyotiklerin ve sinbiyotiklerin (birlikte verilen hem prebiyotiklerin hem de probiyotiklerin bir kombinasyonu) uygulanmasıyla

başarılabilceği ileri sürülmüştür (Vyas ve Ranganathan, 2012). Bağırsak mikrobiyotası ile ilgili yeni keşiflerin ışığında, konakçı bağırsak mikrobiyotasını hedefleyen prebiyotikler, probiyotikler ve sinbiyotikler içeren yeni tedavi seçenekleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Önceki çalışmalar, sinbiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasını düzenlemede potansiyel olarak daha güçlü bir role sahip olduğunu bildirmiştir (Notay ve diğ. 2017; Khalesi ve diğ. 2018; Ebrahimi ve diğ. 2017; Tabrizi ve diğ. 2018).

Kronik ve metabolik bir hastalık olan diyabet diğer bulaşıcı olmayan hastalıklara paralel olarak artmaktadır. Prebiyotik ve probiyotik uygulamasının bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunda ve fonksiyonlarında önemli olduğu düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalar, probiyotiklerin ve prebiyotiklerin diyabet dahil kronik hastalıklarda faydalı etkiler gösterebileceğini belirtmiştir, ancak farklı çalışmaların tartışmalı sonuçları nedeniyle etkileri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Prebiyotik ve probiyotik kombinasyonları olan sinbiyotiklerin diyabetin patogenezindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan hayvanlarda prebiyotik ve probiyotik kombinasyonu olan probien sinbiyotiğinin karaciğer üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışmada, deney hayvanı olarak, 2,5 aylık erkek 32 adet Wistar albino sıçan (220-280 g) kullanıldı. Hayvanlar, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlandı ve deneylerin uygulamaları aynı yerde yapıldı. Deney boyunca hayvanlar, 10/14 saat karanlık-aydınlık, % 50 nem ortamında ve 22-25 °C oda sıcaklığında barındırıldı, standart pelet yem ve musluk suyu ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı.

Çalışmada kullanılan hayvanlar aşağıdaki şekilde gruplandırıldı.

Kontrol grubu (K) (n=8): 1 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) intraperitoneal (ip) olarak uygulandıktan 48 saat sonra 1 ml FTS 28 gün boyunca gavajla oral olarak uygulandı.

Diyabet grubu (D) (n=8): 60 mg/kg STZ (Sigma, S0130) ip olarak uygulandıktan 48 saat sonra 1 ml FTS 28 gün boyunca gavajla oral olarak uygulandı.

Diyabet + Sinbiyotik grubu (DS) (n=8): 60 mg/kg STZ ip olarak uygulandıktan 48 saat sonra 1/2 kapsül Probien®/kg 1 ml FTS ile 28 gün boyunca gavajla oral olarak uygulandı.

Sinbiyotik grubu (S) (n=8): 1 ml FTS ip olarak uygulandıktan 48 saat sonra 1/2 kapsül Probien®/kg 1 ml FTS ile 28 gün boyunca gavajla oral olarak uygulandı.

Probien® içeriği (1 kapsül): **Probiyotik** ($1,5 \times 10^9$ *Lactobasillus acidophilus*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus plantarum*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus bulgaricus*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus paracasei*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus brevis*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus reuteri*, $0,25 \times 10^9$ *Lactobasillus rhamnosus*, $1,25 \times 10^9$ *Bifidobacterium longum*, $0,25 \times 10^9$ *Bifidobacterium bifidum*, $0,25 \times 10^9$ *Bifidobacterium infantis*, $0,25 \times 10^9$ *Streptococcus thermophilus*), **Prebiyotik** (625 mg/kg inulin).

Deney başlangıcında ve STZ uygulamasından 48 saat sonra glikometre (Accu-Chek®PerformsNano Kan Şekeri ölçüm cihazı, Roche Diagnostic Turkey A.Ş.) ile kan glikoz değerleri ölçüldü. Kan glikoz değeri 180 mg/dL ve üzerinde olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi. Ayrıca, deney hayvanlarının ağırlıkları ve glikoz seviyeleri, deney başlangıcından itibaren deney sonuna kadar bir hafta aralıklarla belirlendi.

Deney sonunda hayvanlar ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) ile anestezi edildi. Anestezi altındaki hayvanlardan, biyokimyasal çalışmalar için kalpten kan alındı. Bununla birlikte, biyokimyasal ve ışık mikroskobu çalışmaları için hayvanlardan karaciğer örnekleri alındı.

3.1. IŞIK MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI

3.1.1. Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskobu çalışmaları için alınan doku örnekleri, % 10 nötral tamponlu formalinde 24 saat fikse edildikten sonra, 37 °C’de alkol serilerinden geçirilerek ksilolde saydamlaştırıldı ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan kesitlere (4 µm) hematoksilin-eozin (HE), periyodik asit-Schiff (PAS)-hematoksilin (PAS-H) ve Masson’un üçlü boyası uygulandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda, X20 büyütmede her birey için 10 alan olacak şekilde incelendi. Karaciğer hasarı için histopatolojik olarak, sinüzoidlerde dejenerasyon ve genişleme, merkezi ven epitelinde parçalanma, hepatositlerde vakuolar dejenerasyon ve portal inflamatuvar hücre infiltrasyonu parametreleri dikkate alınarak 0: değişiklik yok; 1: az/hafif; 2: orta; 3: şiddetli olacak şekilde skorlandı. Preparatlardan Kameram 5U3 (Mikrosistem Ltd. Türkiye) sistemi ile fotoğraflar çekildi.

3.1.2. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Parafin bloklardan alınan kesitler (4 µm) ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Mikrodalgada sitrat tamponu (pH 6,0)’nda 10 dakika tutulan kesitler, oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Kesitler, hidrojen peroksit (H₂O₂)’de 10 dakika tutulduktan sonra fosfat tamponu (PBS)’na (pH 7,2) alındı. Daha sonra Ultra V blok (Thermo Fisher Scientific, TA-125-UB) 5 dakika uygulandı. Kesitler, iNOS (Thermo Fisher Scientific, B-1605-P), TNF-α (Abcam ab66579) ve IL-6 (Abcam, 6672) antikorlarında bir gece +4 °C’de tutuldu. Antikorlar, UltrAbDiluent’de (Thermo Fisher Scientific, TA-125-UD) sulandırıldı. Kesitler, biyotinlenmiş sekonder antikorda (Thermo Fisher Scientific, TP-125-BN) 30 dakika tutuldu. Daha sonra PBS’de yıkandı ve peroksidaz işaretli streptavidinde (Thermo Fisher Scientific, TS-125-HR) 30 dakika tutuldu. Renkli reaksiyonun oluşması için 5 dakika AEC (3-amino-9-etilkarbazol) (Thermo Fisher Scientific, TA-004-HAC) muamele edildikten sonra Mayer hematoksilin ile boyandı.

Reaksiyon dağılımının değerlendirilmesi HSCORE ile yapıldı. Kesitlerde rastgele seçilen 5 farklı bölgede reaksiyon görülen hücrelerin yüzdesi (Pi) ve reaksiyonun yoğunluğu (i)

belirlendi. Bu veriler, $HSCORE=S \cdot P_i (i+1)$ formülü ile değerlendirildi. Preparatlardan reaksiyonları içeren fotoğraflar çekildi.

3.2. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

Deney sonunda alınan kan örneklerinde, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri enzimatik yöntemlerle ticari bir kit (Roche Molecular Systems, Branchburg, New Jersey, ABD) kullanılarak otoanalizörde (Roche Hitachi Cobas c311) ölçüldü. Total antioksidan durumu (TAS) (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Turkey) ve total oksidan durumu (TOS) (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Turkey) ticari kit kullanılarak ölçüldü. NO seviyesi ticari rat nitrik oksit ELISA (enzim bağlı immün assay) kiti (Bioassay Technology Laboratory, Zhejiang, China) ile belirlendi. Ayrıca dokuda da lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA ölçümleri yapıldı.

Deney hayvanlarının kan örnekleri, 10 dakika +4 °C’de 900 rpm’de santrifüj (Rotina 380R, Hettich, Germany) edildikten sonra elde edilen serumlar ayrılarak analizler yapılana kadar -80 °C’de tutuldu.

Deney sonunda hayvanlardan alınan karaciğer örnekleri analizler yapılana kadar -80 °C’de tutuldu. Analiz sırasında karaciğer örnekleri 0,15 N KCl (pH 7,4) tamponu içinde homojenizatör (Ultra Turrax T10 IKA, Wilmington, NC, USA) kullanarak homojenizasyonu yapıldı. Homojenatlar, 10 dakika 900 rpm’de +4 °C’de santrifüj (Rotina 380R, Hettich, Germany) edildi ve süpernatantlar toplandı.

Elde edilen serumlarda, serumda çalışmaya uygun ticari Roche kitleri kullanılarak (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ) otoanalizörde (Roche-HITACHI Cobas c 311) ALT (U/L) ve AST (U/L) düzeyleri belirlendi.

Elde edilen süpernatantlarda çalışmaya uygun kitler kullanılarak ELISA yöntemiyle NO konsantrasyonu belirlendi. Her test, üretici firmanın verdiği talimatlara göre yapıldı. Her kitin standart eğri grafiği, kitin içinde olan standart çözelti sayesinde seyreltilerek oluşturuldu ve ölçüm esnasında her standart (50µl) ELISA plakalarına çift kuyuya gelecek (duplicate) şekilde eklendi. Her test kuyucuğuna örnekten (40µl) eklendikten sonra teste özgü antikor (10µl) eklendi ve daha sonra üstüne Streptavidin-HRP konjugat (50µl) eklendi. Kör kuyularına örnek, antikor ve Streptavidin-HRP konjugat eklenmedi. Daha sonra ELISA plakası, 60 dakika 37

°C’de bekletildi. Süre bitiminde 5 kere ELISA plakası kuyucukları yıkama solüsyonu ile yıkandı, kuyucuklarda sıvı kalmadığına emin olduktan sonra Chromogen A (50µl) ve Chromogen B (50µl) her kuyuya eklendi ve 10 dakika 37 °C’de bekletildi. Daha sonra her kuyuya durdurucu solüsyon (50µl) eklendi. ELISA test plakası, 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okundu. Kitte bulunan standart kullanılarak ölçülen absorbansa karşılık gelen NO konsantrasyonu (µmol/L) bulundu.

Elde edilen süpernatant ile MDA ölçümü, asidik ortamda MDA’nın tiyobarbitürik asitle meydana getirdiği rengin 532 nm’de absorbansın ölçülmesine dayanan yöntemi ile yapıldı (Ohkawa ve diğ. 1979). Karaciğer doku homojenat örneklerine, sodyum dodesilsülfat, % 20’lik asetik asit ve tiyobarbitürik asit solüsyonu eklenerek karıştırıldı ve 90 °C’de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra n-Butanol/Piridin eklendi. Santrifüj edilerek üst tabakanın absorbansı ölçüldü. MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Elde edilen süpernatantlarda, TAS ve TOS (RelAssayDiagnostics, Gaziantep, Turkey) seviyeleri ve elde edilen değerlerle oksidatif stres indeksi (OSI) belirlendi. Süpernatantlardaki antioksidanlar, renkli ABTS radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirger. Örneklerin absorbansındaki değişiklikler için TAS seviyeleri, ELISA cihazında 660 nm’de ölçüldü. Test kiti, Trolox Eşdeğeri olarak isimlendirilen stabil bir antioksidan standart solüsyonla kalibre edildi. Sonuçlar litre başına Trolox Eşdeğeri (mmol Trolox eq/L) cinsinden ifade edildi.

Süpernatantlardaki oksidanlar, demir iyonu-şelatör kompleksini demir iyonuna oksitlenir. Oksidasyon reaksiyonu, ortamında bulunan güçlendirici moleküller tarafından uzatılır. Asidik bir ortamda ferrik iyon, kromojen ile renkli bir yapı meydana getirir. Rengin yoğunluğu, örneklerde bulunan total oksidan miktarı ile ilgilidir. Örneklerin absorbans değişiklikleri için TOS seviyeleri ELISA cihazında 530 nm’de ölçüldü Test kiti H₂O₂ ile kalibre edildi ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri (µmol H₂O₂ eq/L) olarak verildi. OSI’nin hesaplanması, TAS ve TOS değerleri belirlendikten sonra (TOS/TAS) x 100 formülü kullanılarak yapıldı.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızdaki verilerin istatistiksel analizi Instat istatistiksel programı (Instat Graph Pad Software, San Diego, CA, USA) aracılığıyla yapıldı. Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak gösterildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu belirlemek amacıyla Shapiro-Wilk testi

yapıldı. Daha sonra, biyokimyasal, histolojik ve immunohistokimyasal verilerden normal dağılım göstermeyen verilere Kruskal Wallis testi (parametrik olmayan test), normal dağılıma sahip verilere tek yönlü ANOVA uygulanarak Tukey ve Dunn testleri yapıldı. Kan glikoz değerlerine ile vücut ağırlıklarına ait veriler çift yönlü ANAVO uygulanarak Benforroni'nin çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi.

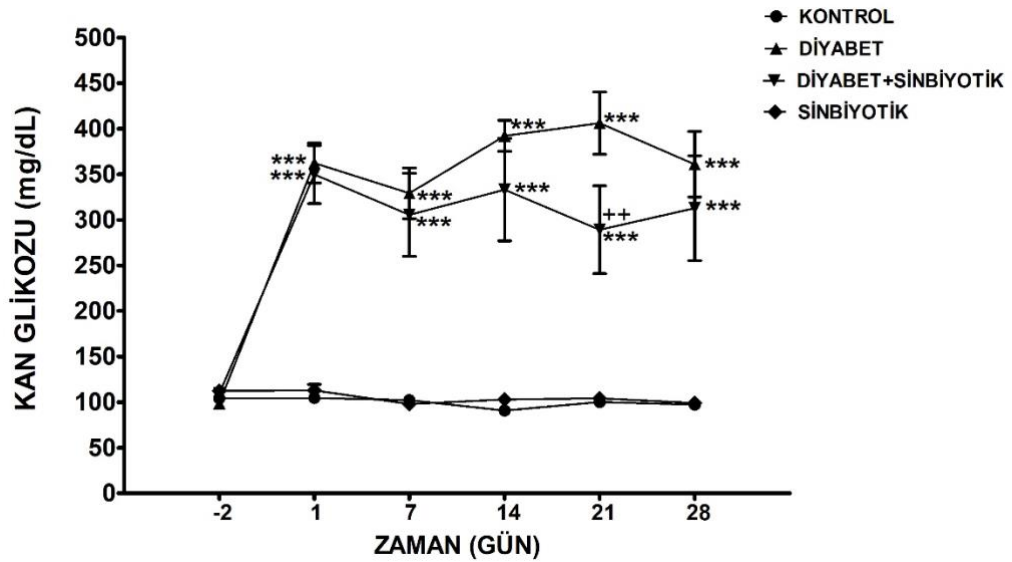


4. BULGULAR

4.1.KAN GLİKOZ DEĞERLERİNE AİT BULGULAR

Deney hayvanlarından alınan kan örneklerinde STZ uygulamasından önce ve STZ uygulamasından 48 saat sonra glikometre (Accu-Chek® Per-forms Nano Kan Şekeri Ölçüm Cihazı, Roche Diagnostic Turkey A.Ş.) ile kan glikoz değerleri belirlendi. Kan glikoz değeri 180 mg/dL ve üzerinde olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi. Ayrıca, deney başlangıcından itibaren bir hafta aralıklarla 7., 14., 21. ve 28. günde olmak üzere deney boyunca hayvanlarının glikoz değerleri ölçüldü.

Deney hayvanlarının kan glikoz değerlerine bakıldığında, STZ uygulanan diyabetik gruba ait hayvanlarda, kan glikoz düzeylerinin kontrol grubuna göre deney boyunca (1., 7., 14., 21., ve 28. günde) arttığı görüldü ($p<0,001$). Sinbiyotik uygulanan diyabetik hayvanların kan glikoz değerleri diyabet grubu ile karşılaştırıldığında bir azalmanın olduğu, ancak sadece 21. günde azalmanın anlamlı olduğu ($p<0,01$) belirlendi. Kontrol ve sadece sinbiyotik uygulanan grubun kan glikoz değerlerinde deney boyunca bir değişiklik olmadığı görüldü (Şekil 4.1).

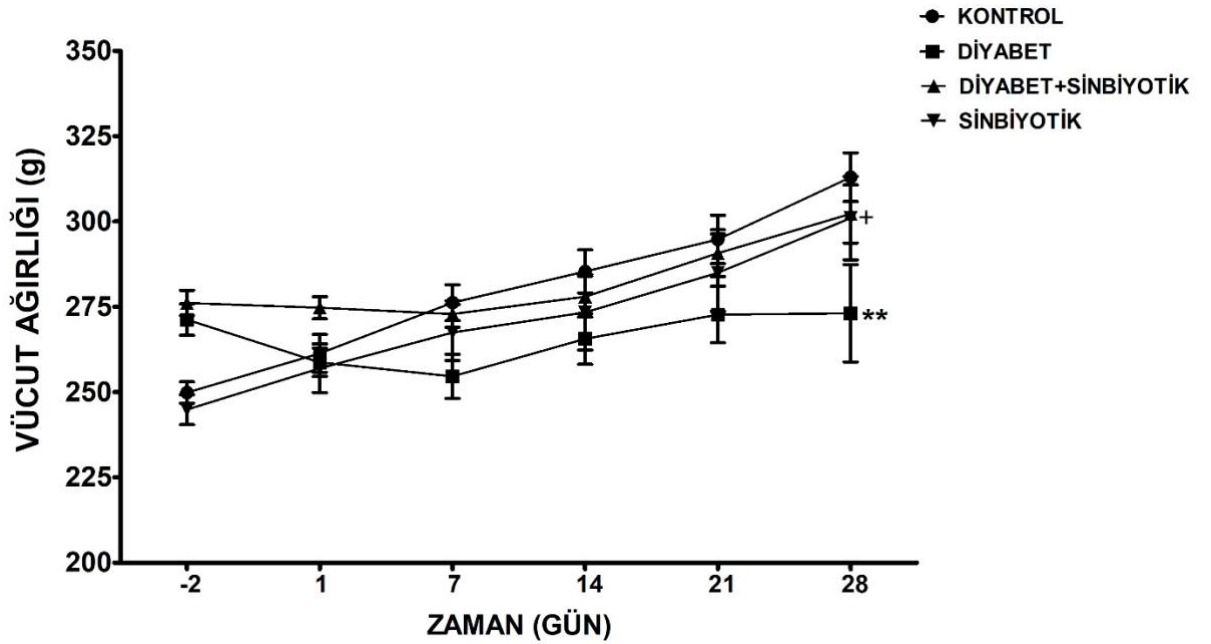


Şekil 4.1: Deney gruplarına ait kan örneklerinde ölçülen glikoz değerlerinin deney boyunca karşılaştırılması [STZ uygulaması öncesi (-2. gün), STZ uygulamasından 48 saat sonra (deney başlangıcı (1. gün)), 7, 14, 21 ve 28 gün sonra]. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık

4.2.VÜCUT AĞIRLIKLARINA AİT BULGULAR

Deney hayvanlarının ağırlıkları, STZ uygulamasından önce, STZ uygulamasından 48 saat sonra (deney başlangıcı) ve deney başlangıcından itibaren bir hafta aralıklarla 7., 14., 21. ve 28. günde olmak üzere deney boyunca belirlendi.

Deney hayvanlarının vücut ağırlıklarına bakıldığında, STZ uygulanan diyabetik gruba ait hayvanların ağırlıkları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece deney sonunda anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Sinbiyotik uygulanan diyabetik hayvanların ağırlıkları diyabet grubu ile karşılaştırıldığında deney sonunda vücut ağırlıklarında artış olduğu ($p<0,05$) belirlendi. Kontrol ve sadece sinbiyotik uygulanan grupların vücut ağırlıklarının deney boyunca değişmediği belirlendi (Şekil 4.2).



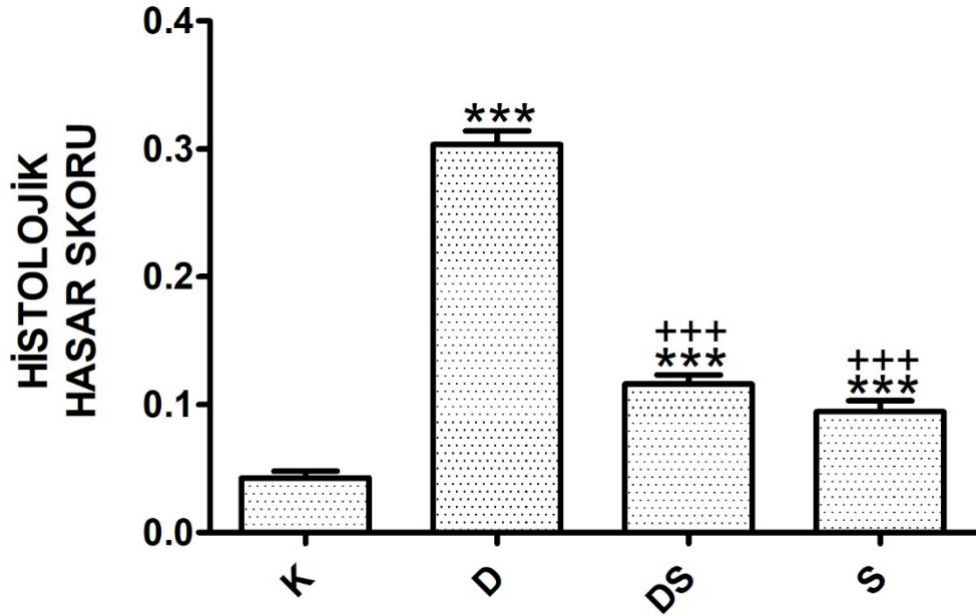
Şekil 4.2: Deney gruplarına ait vücut ağırlık değerlerinin deney boyunca karşılaştırılması [STZ uygulaması öncesi (-2. gün), STZ uygulamasından 48 saat sonra (deney başlangıcı (1. gün)), 7, 14, 21 ve 28 gün sonra]. ** $p<0,01$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

4.3. IŞIK MİKROSKOBU BULGULARI

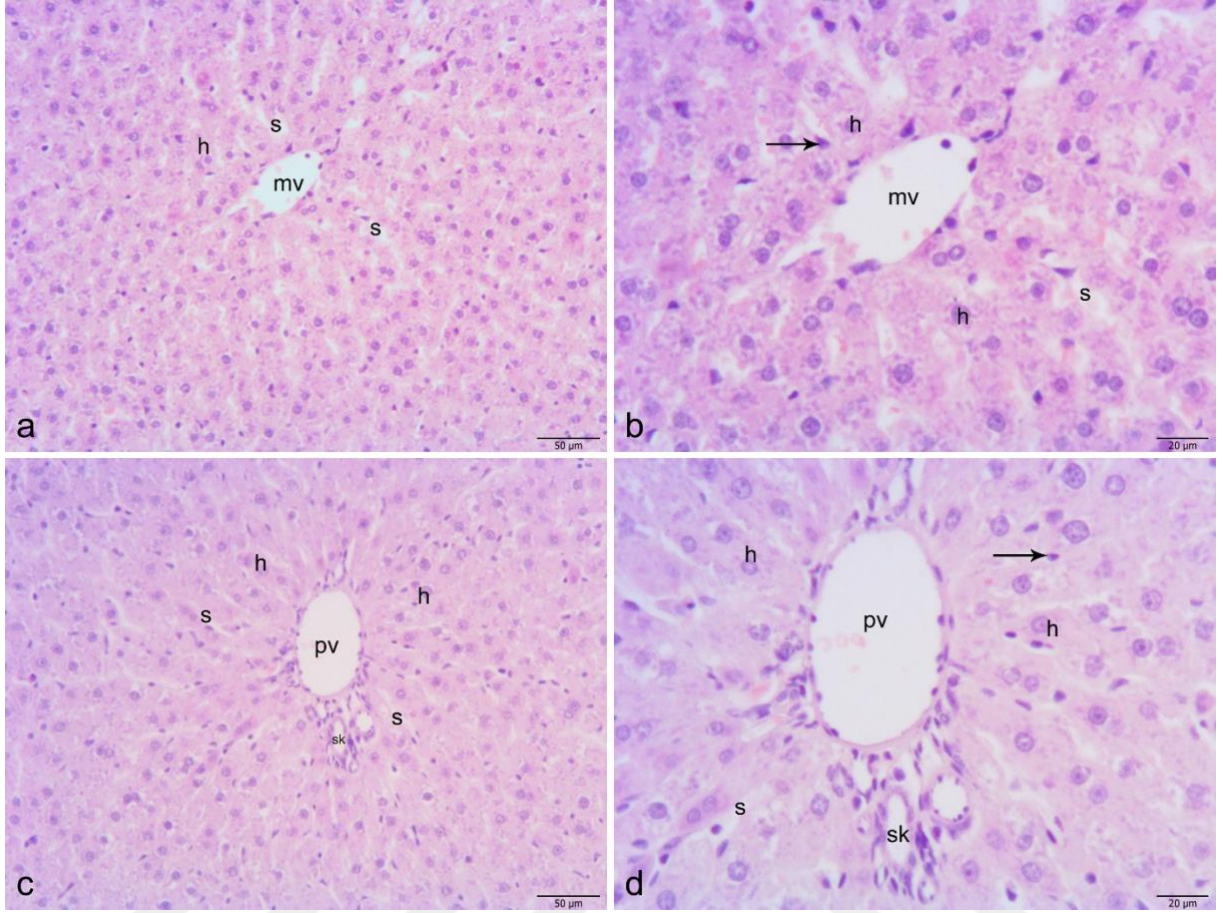
4.3.1. Histolojik Bulgular

Deney gruplarında bulunan hayvanların karaciğerlerine ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde, grupların arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi (Şekil 4.3).

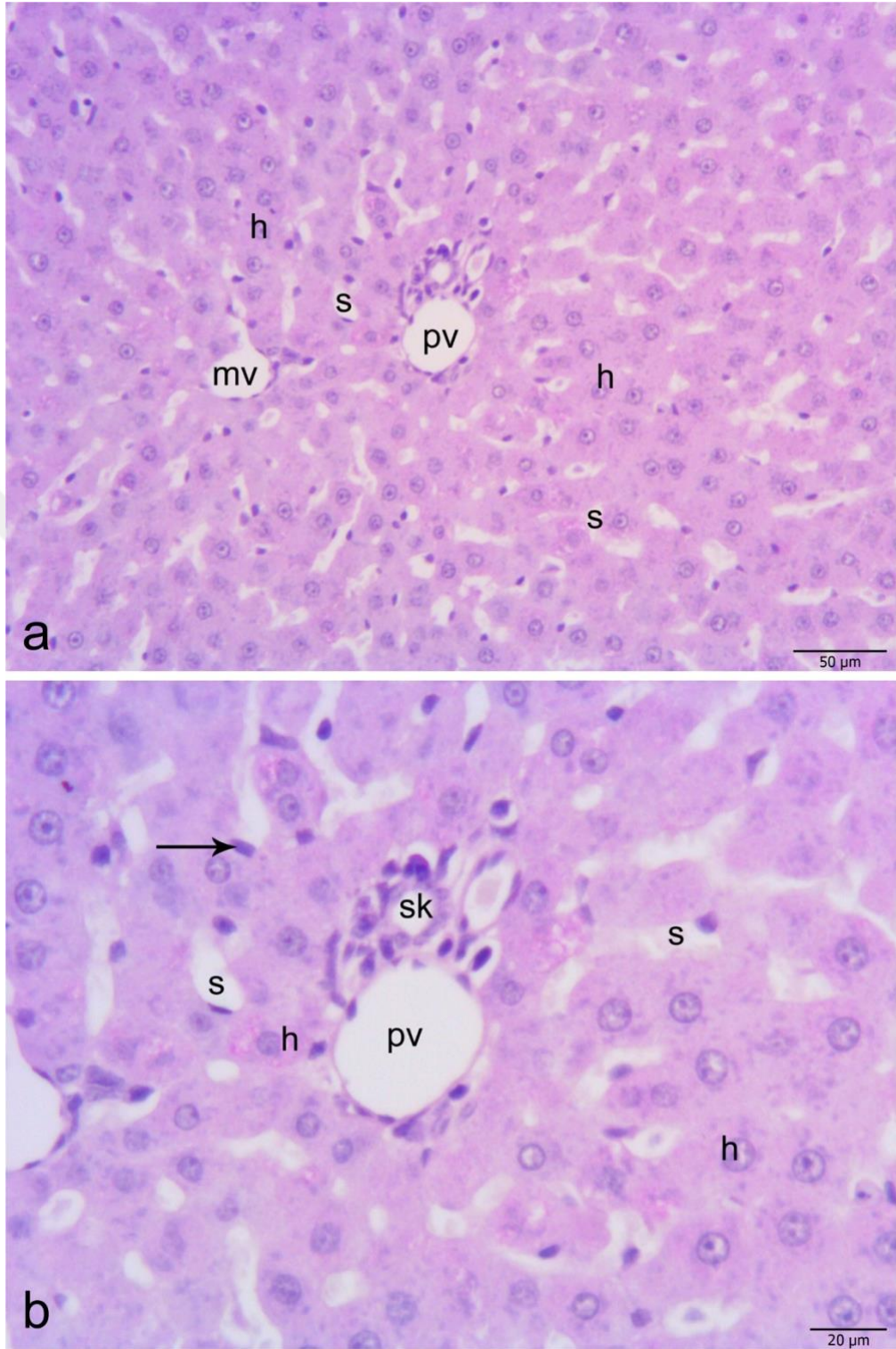
Kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde normal histolojik özellikler belirlendi (Şekil 4.4-4.6). Merkezi ven endotelinin, sinüzoidlerin, hepatositlerin ve Kupffer hücrelerinin normal görünümde olduğu görüldü (Şekil 4.4-4.6). Portal alanların görünümünün düzgün olduğu belirlendi (Şekil 4.4-4.6).



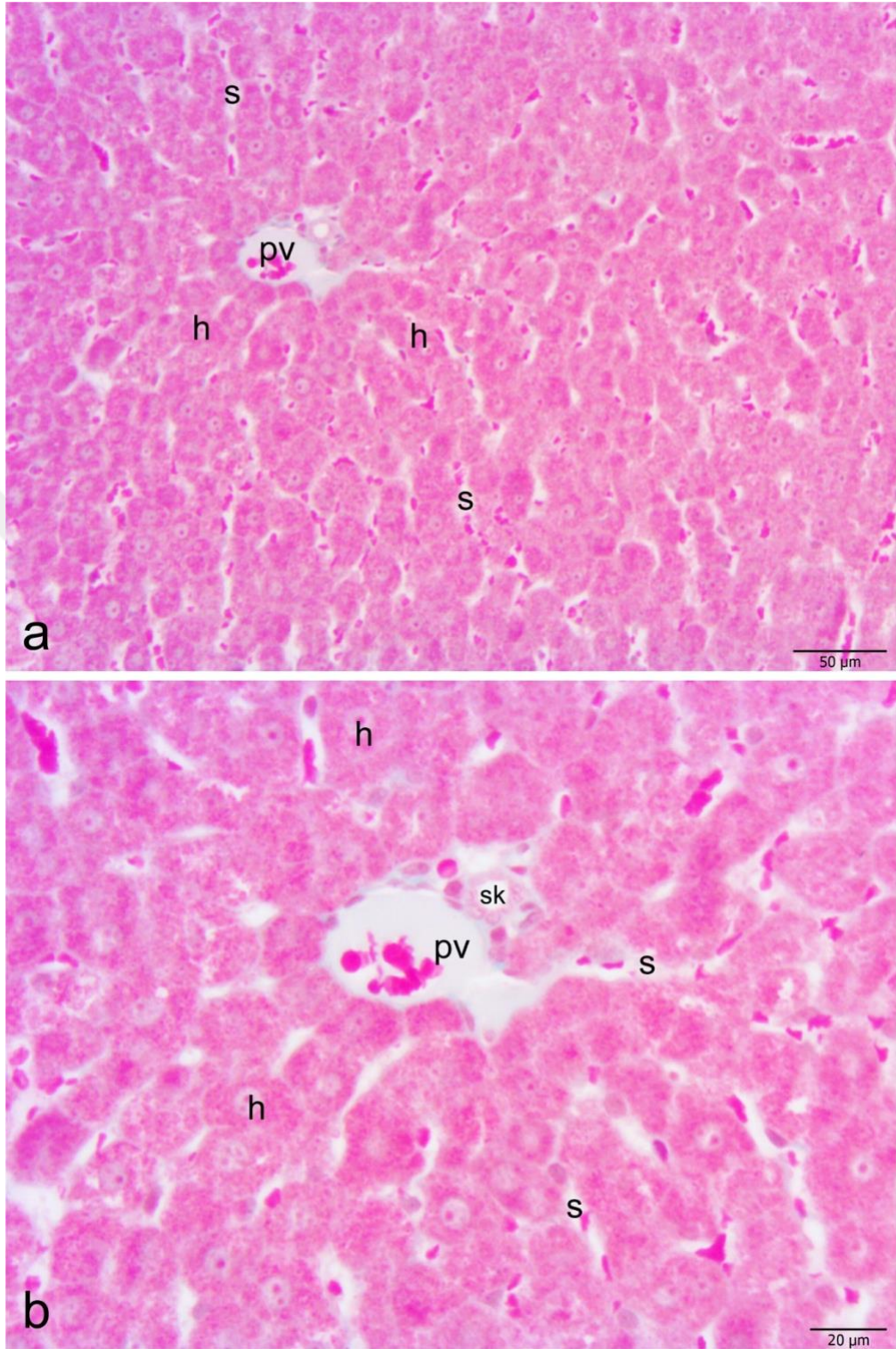
Şekil 4.3: Deney gruplarının karaciğer dokusunda histolojik hasar skorunun gösterilmesi. *** $p < 0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++ $p < 0,001$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.4: Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), portal ven (pv), hepatositler (h), sinüzoidler (s), safra kanalı (sk) ve Kupffer hücreleri (→). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, HE.

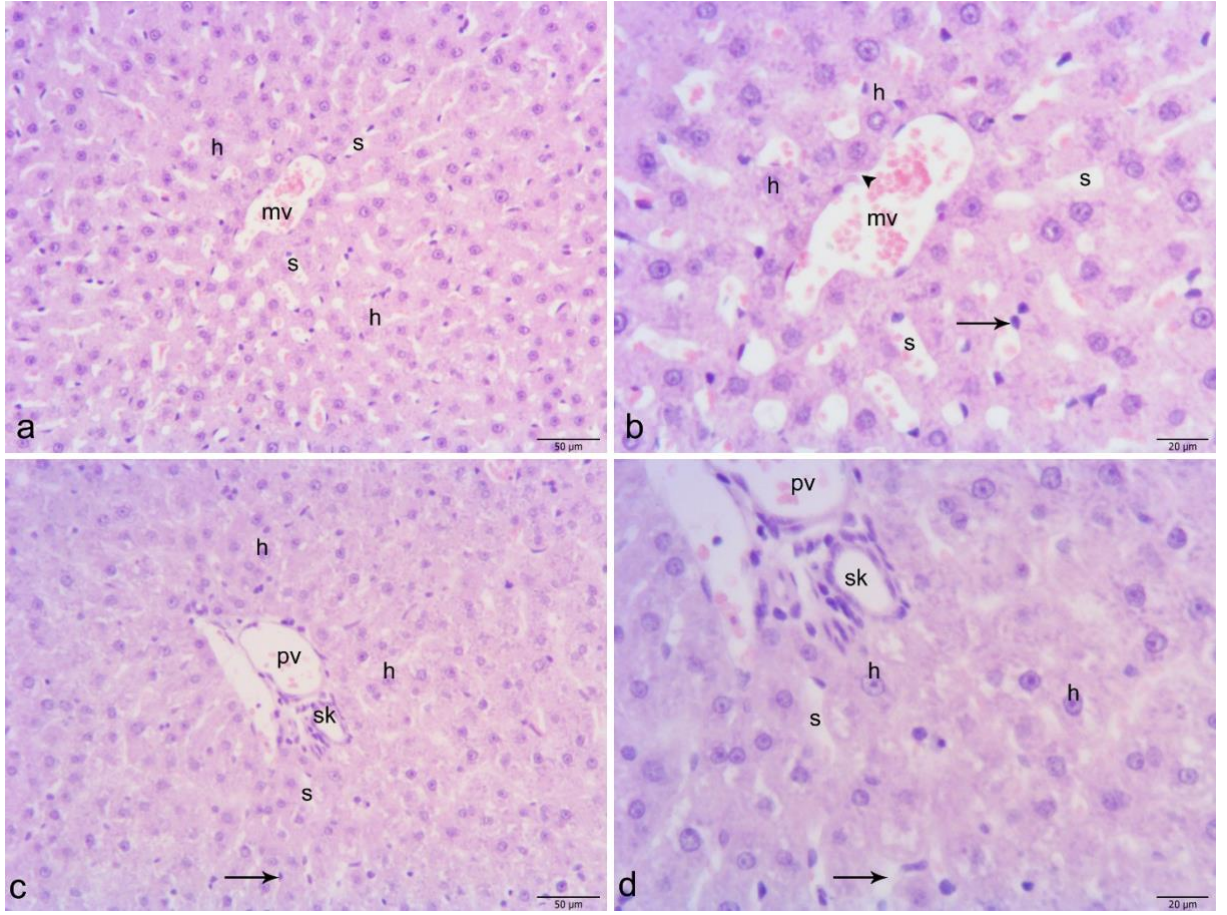


Şekil 4.5: Kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), portal ven (pv), safra kanalı (sk), hepatositler (h) ve Kupffer hücreleri (→). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, PAS-H.

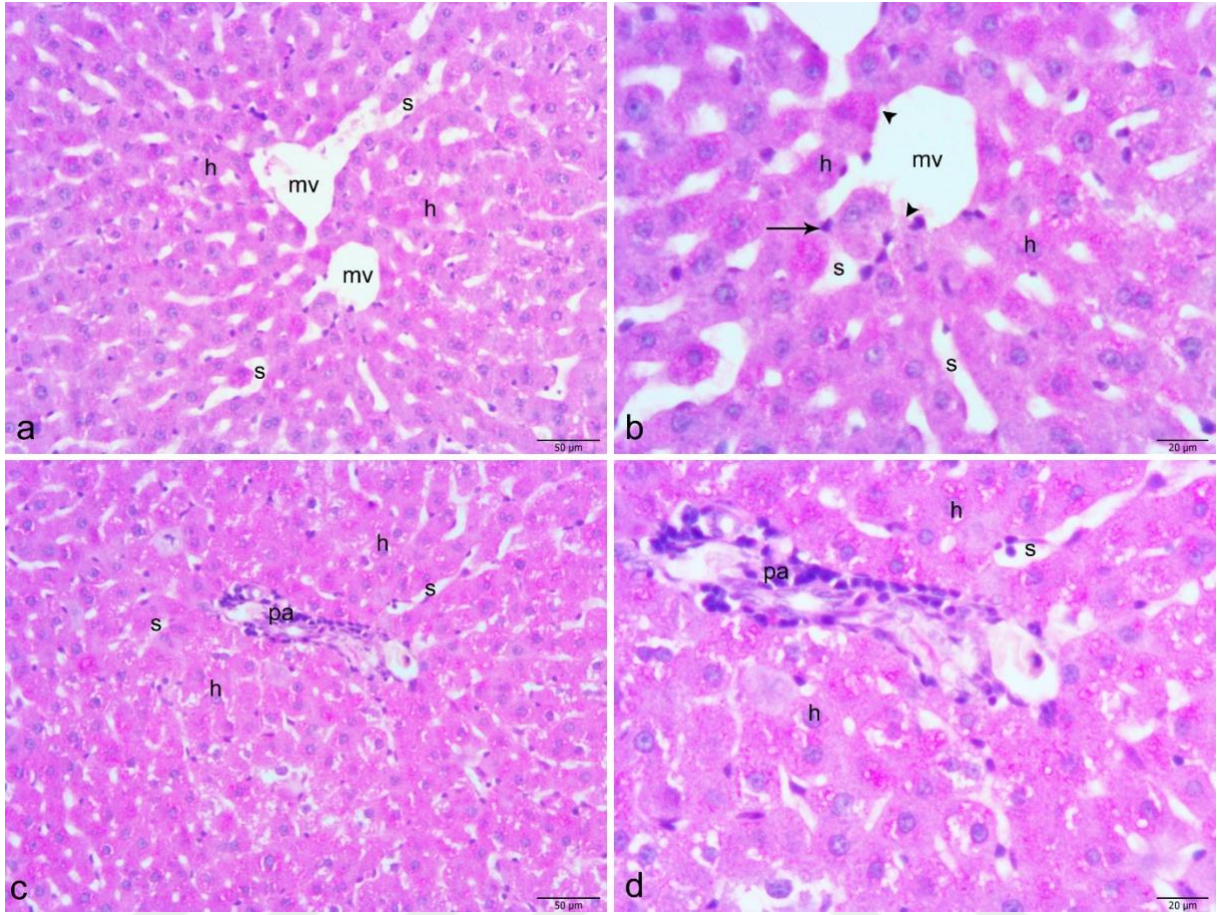


Şekil 4.6: Kontrol grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), safra kanalı (sk), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.

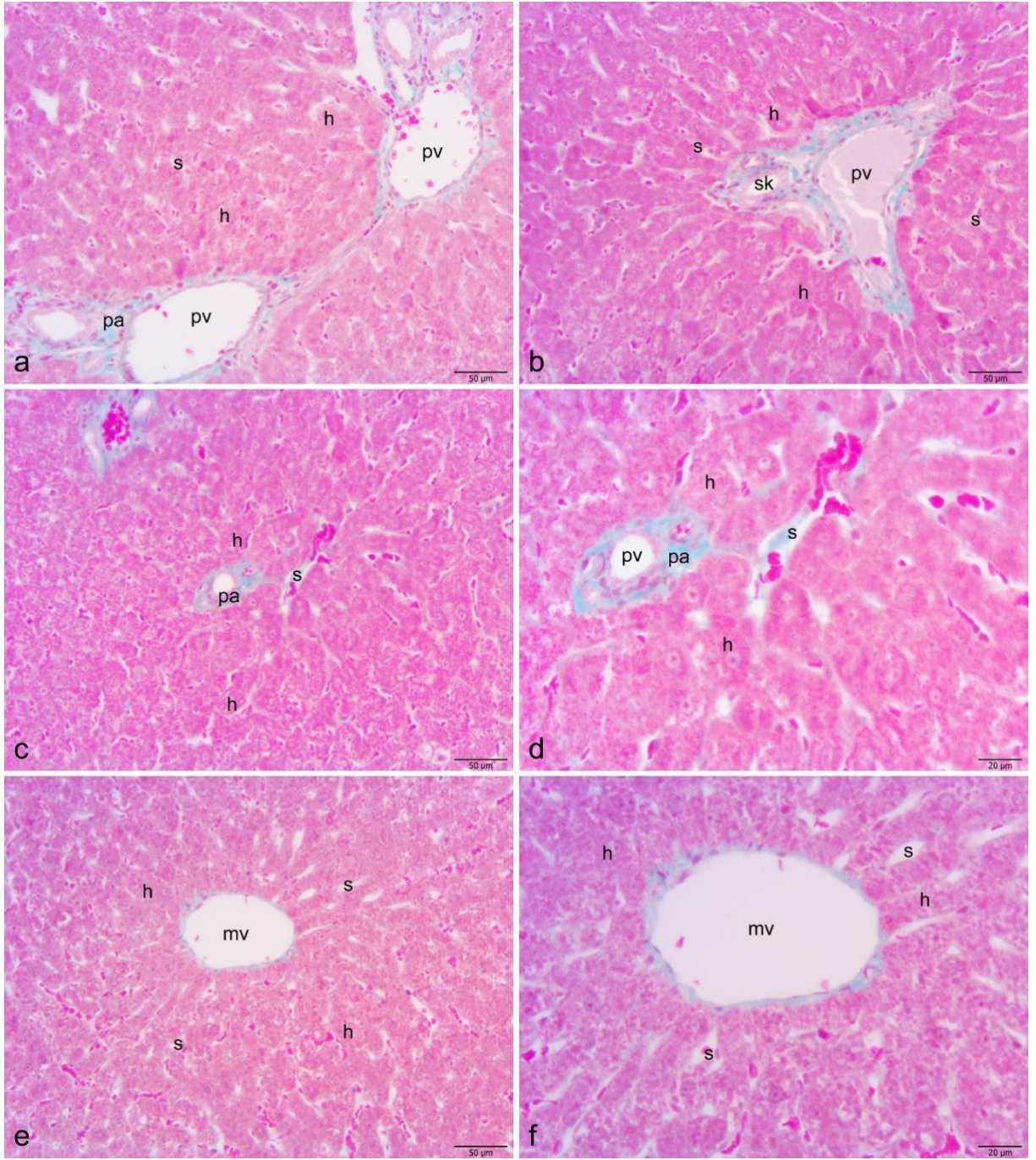
Diyabet grubuna ait hayvanların karaciğer kesitleri incelendiğinde, hasarının kontrolle karşılaştırıldığında arttığı ($p<0,001$) görüldü (Şekil 4.3). Karaciğer kesitlerinde sinüzoidlerin genişlediği ve merkezi ven endotellerinde düzensizliklerin olduğu tespit edildi. Bazı bölgelerde hepatositlerin şekillerinin değiştiği ve düzgün ışımsal dağılım göstermediği belirlendi (Şekil 4.7a-b, 4.8a-b). Kupffer hücrelerin daha belirgin olduğu görüldü (Şekil 4.7b-d, 4.8b). Bazı portal alanlarda inflamasyonun ve bağ doku artışının olduğu belirlendi (Şekil 4.8c-d, 4.9).



Şekil 4.7: Diyabet grubuna ait karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv) endotelindeki devamsızlık (►), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→), hepatositler (h), portal ven (pv) ve safra kanalı (sk). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, HE.

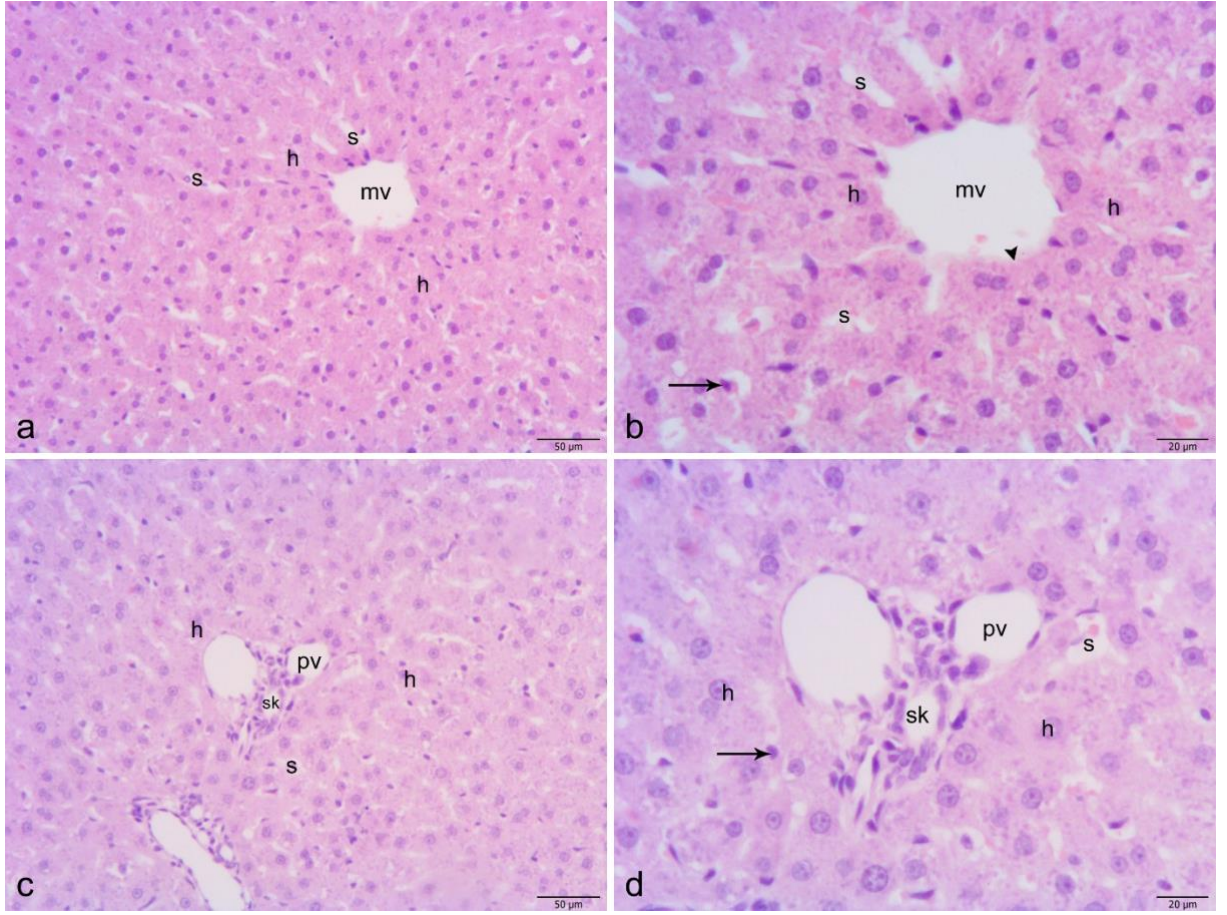


Şekil 4.8: Diyabet grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv) endotelinde devamsızlık (►), portal alan (pa), sinüzoidler (s), hepatositler (h) ve Kupffer hücreleri (→). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, PAS-H.

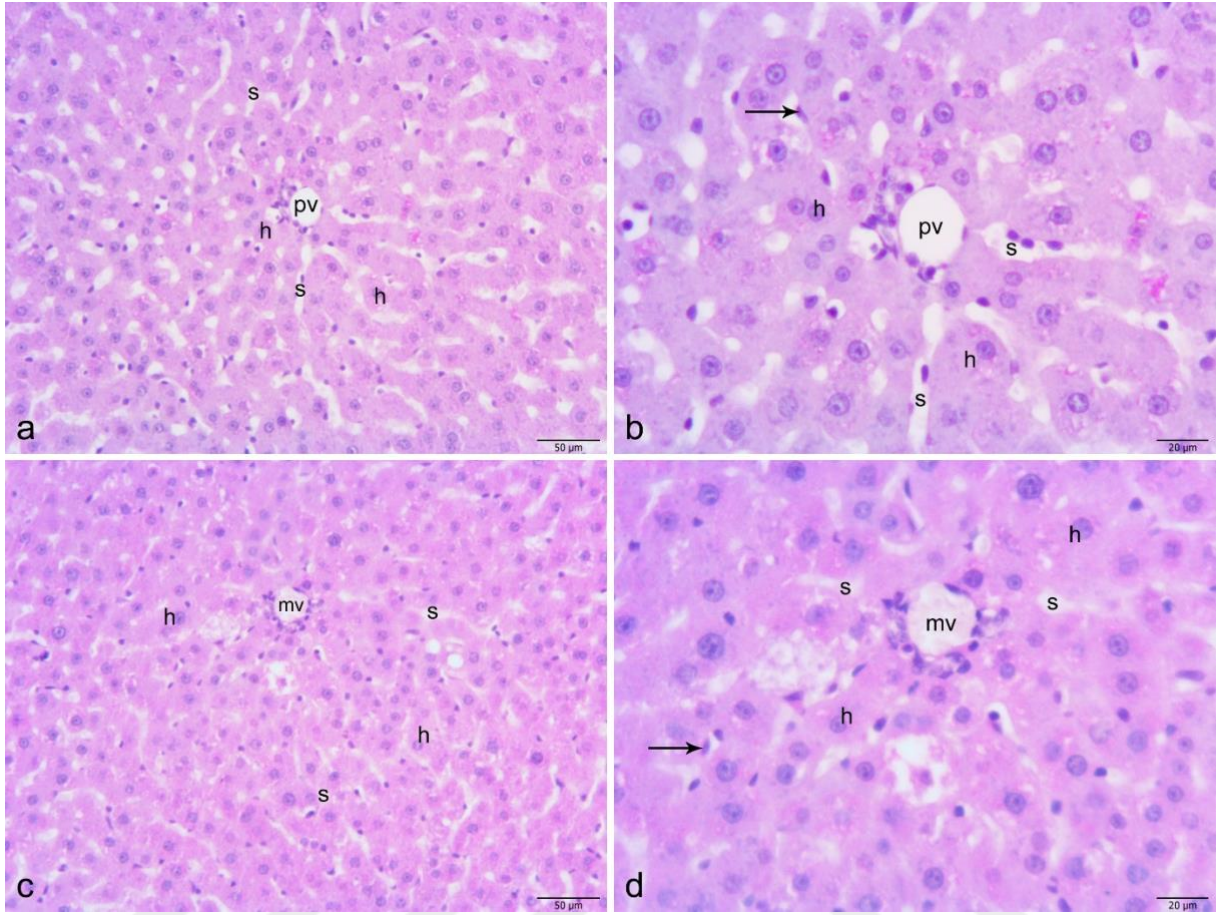


Şekil 4.9: Diyabet grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), portal ven (pv), portal alan (pa), safra kanalı (sk), hepatositler (h) ve sinüzoidler (s). a-c, e) Bar=50 µm, d, f) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.

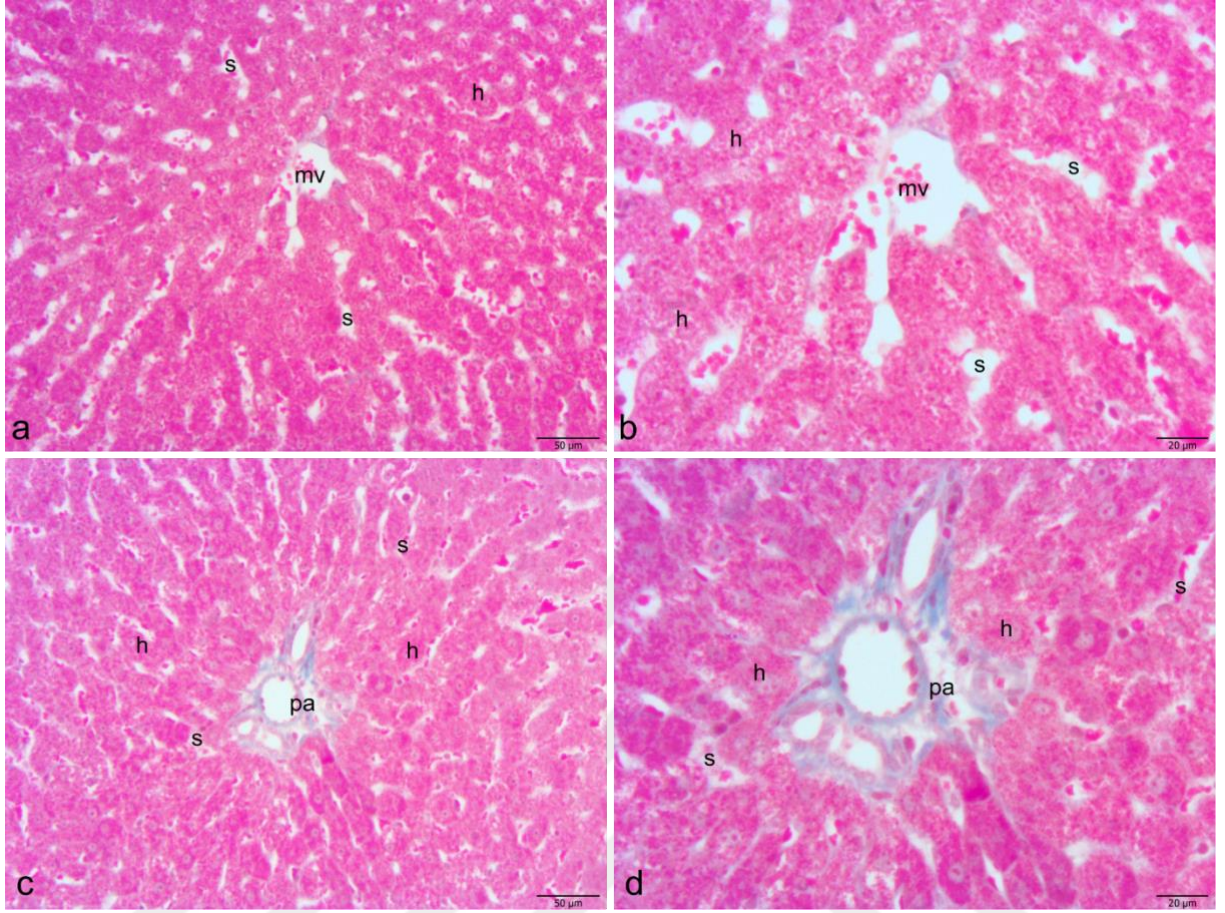
Sinbiyotik uygulanan diyabetik grubun hayvanlarına ait karaciğer kesitleri incelendiğinde doku hasarının diyabete göre azalmış ($p<0,001$) olduğu (Şekil 4.3), ancak bazı bölgelerde yapısal bozukluğun devam ettiği, hepatositlerde ve sinüzoidlerde düzensizliğin olduğu görüldü (Şekil 4.10-4.12). Merkezi ven endotelinin bazı bölgelerde bütünlüğün devam etmediği belirlendi (Şekil 4.10b). Portal alanlarda bağ dokusu artışının olmadığı ve kontrol grubuna benzediği görüldü (Şekil 4.11a-b-12c-d).



Şekil 4.10: Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→), hepatositler (h), portal ven (pv) ve safra kanalı (sk). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, HE.

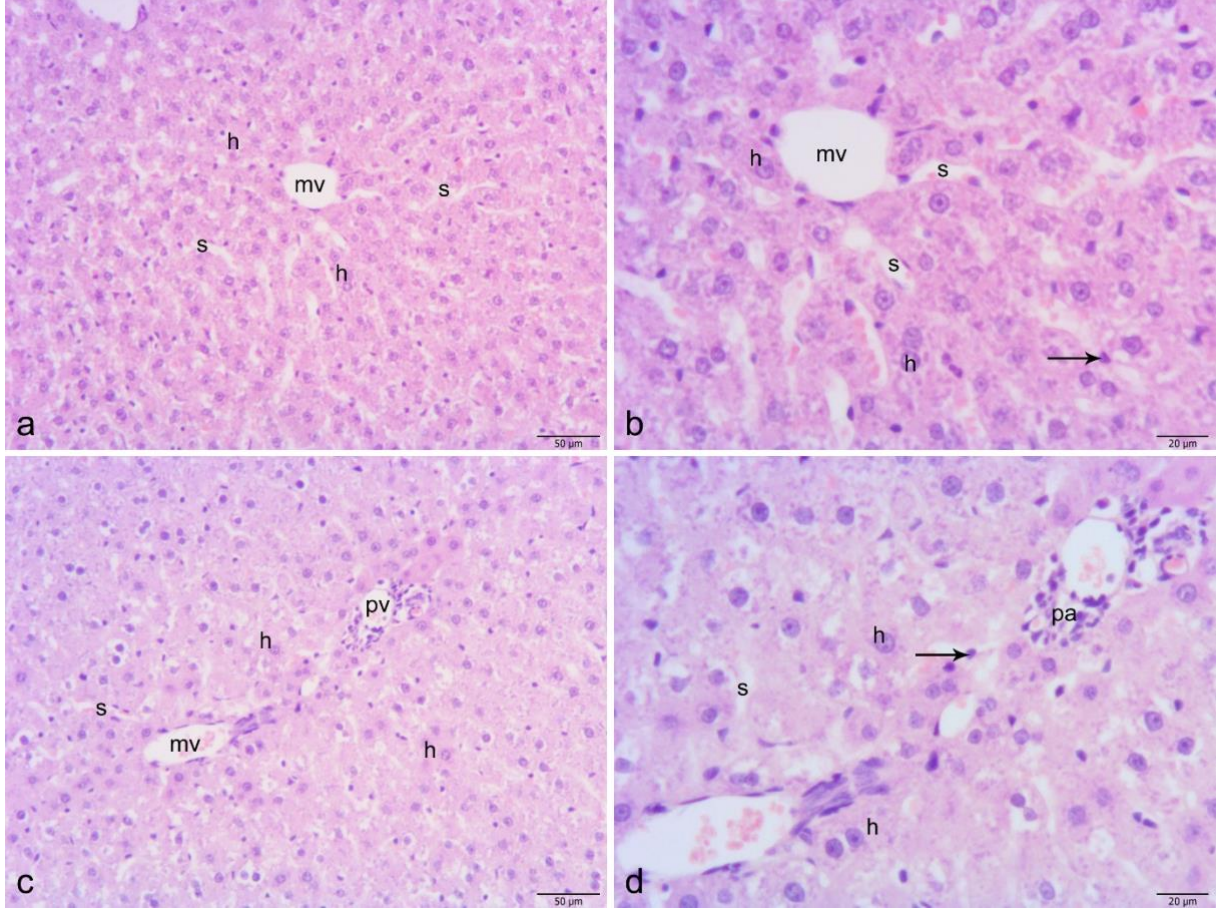


Şekil 4.11: Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), hepatositler (h), Kupffer hücreleri (→) ve portal ven (pv). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, PAS-H.

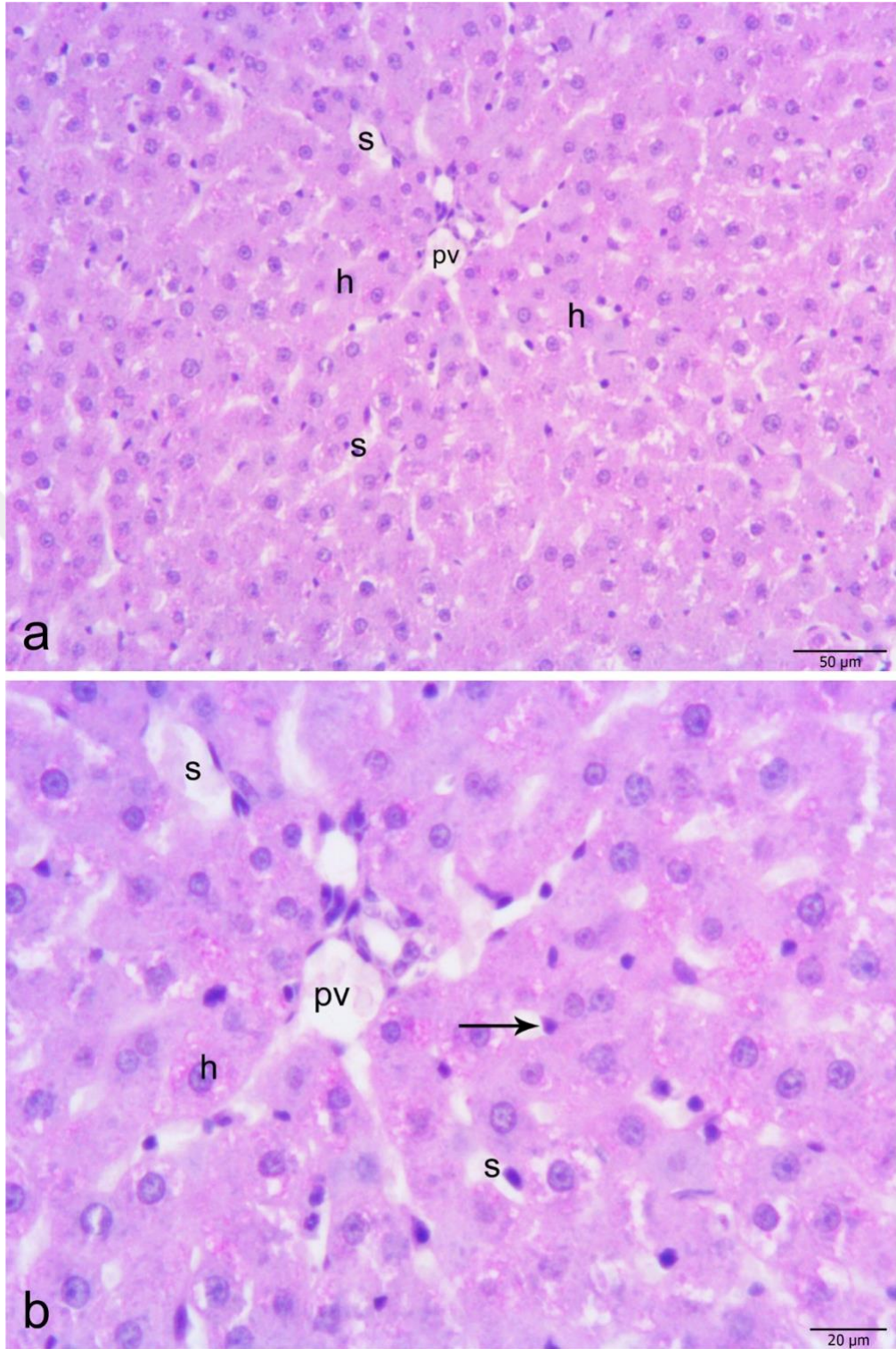


Şekil 4.12: Diyabet + sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal alan (pa), merkezi ven (mv), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.

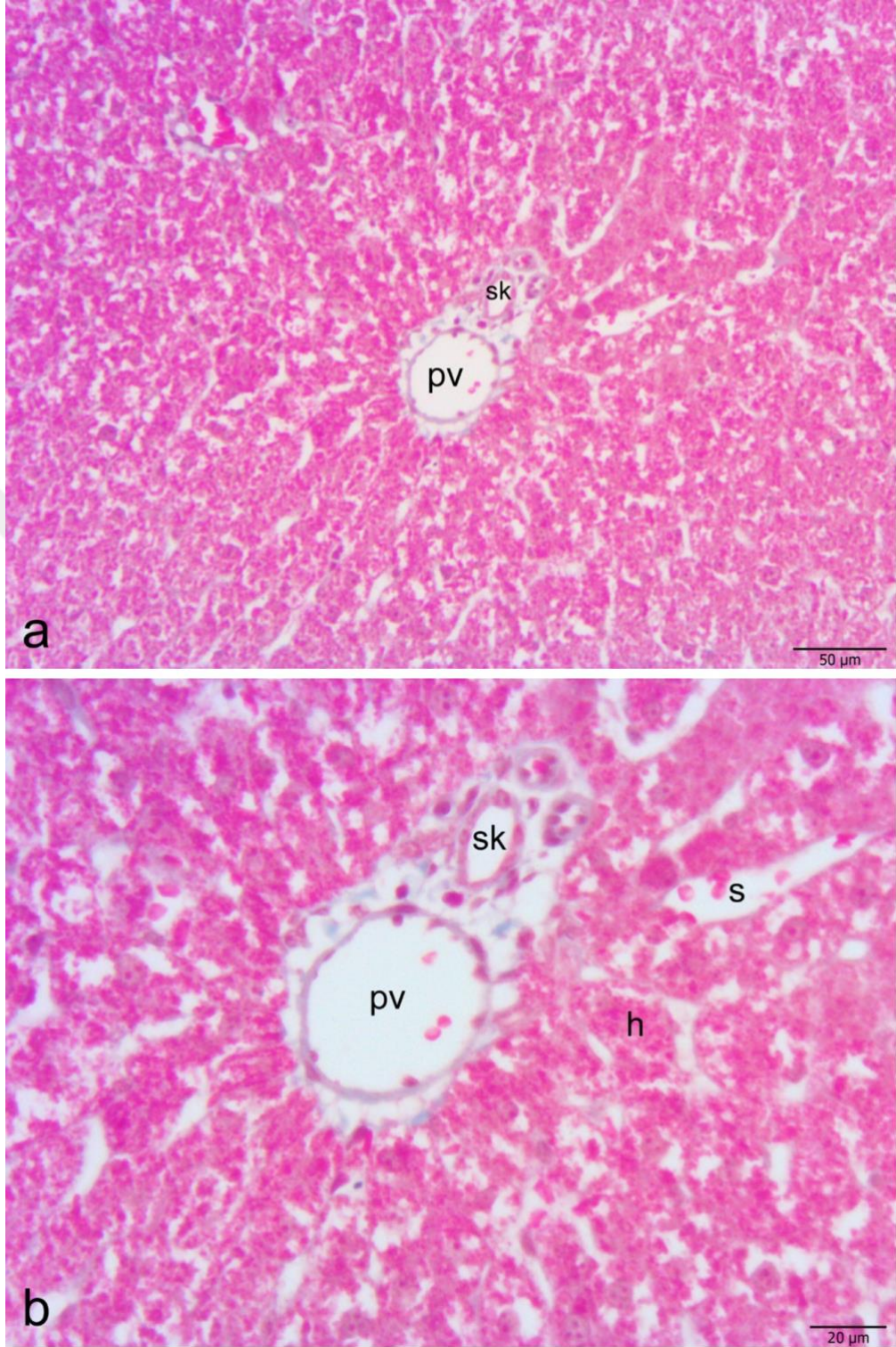
Sinbiyotik uygulanan gruba ait hayvanların karaciğer kesitleri incelendiğinde, morfolojik değişikliklerin ve hasarının olduğu ($p<0,001$) (Şekil 4.3), ancak birçok bölgede sinüzoidlerin, hepatositlerin ve merkezi ven endotelinin kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.13-4.15). Kupffer hücrelerinin kontrole benzer belirlendi (Şekil 4.13b, d-4.14b). Portal alanların da genel olarak düzgün olduğu görüldü (Şekil 4.3.1.11c-d--4.3.1.13).



Şekil 4.13: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal alan (pa), portal ven (pv), merkezi ven (mv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→) ve hepatositler (h). a, c) Bar=50 µm, b, d) Bar=20 µm, HE.



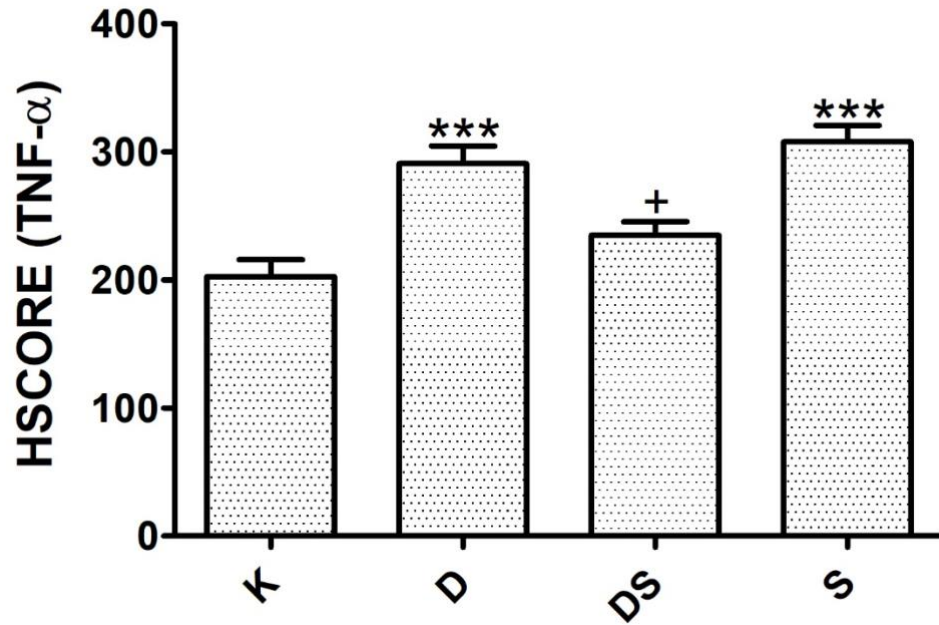
Şekil 4.14: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), sinüzoidler (s), Kupffer hücreleri (→) ve hepatositler (h). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, PAS-H.



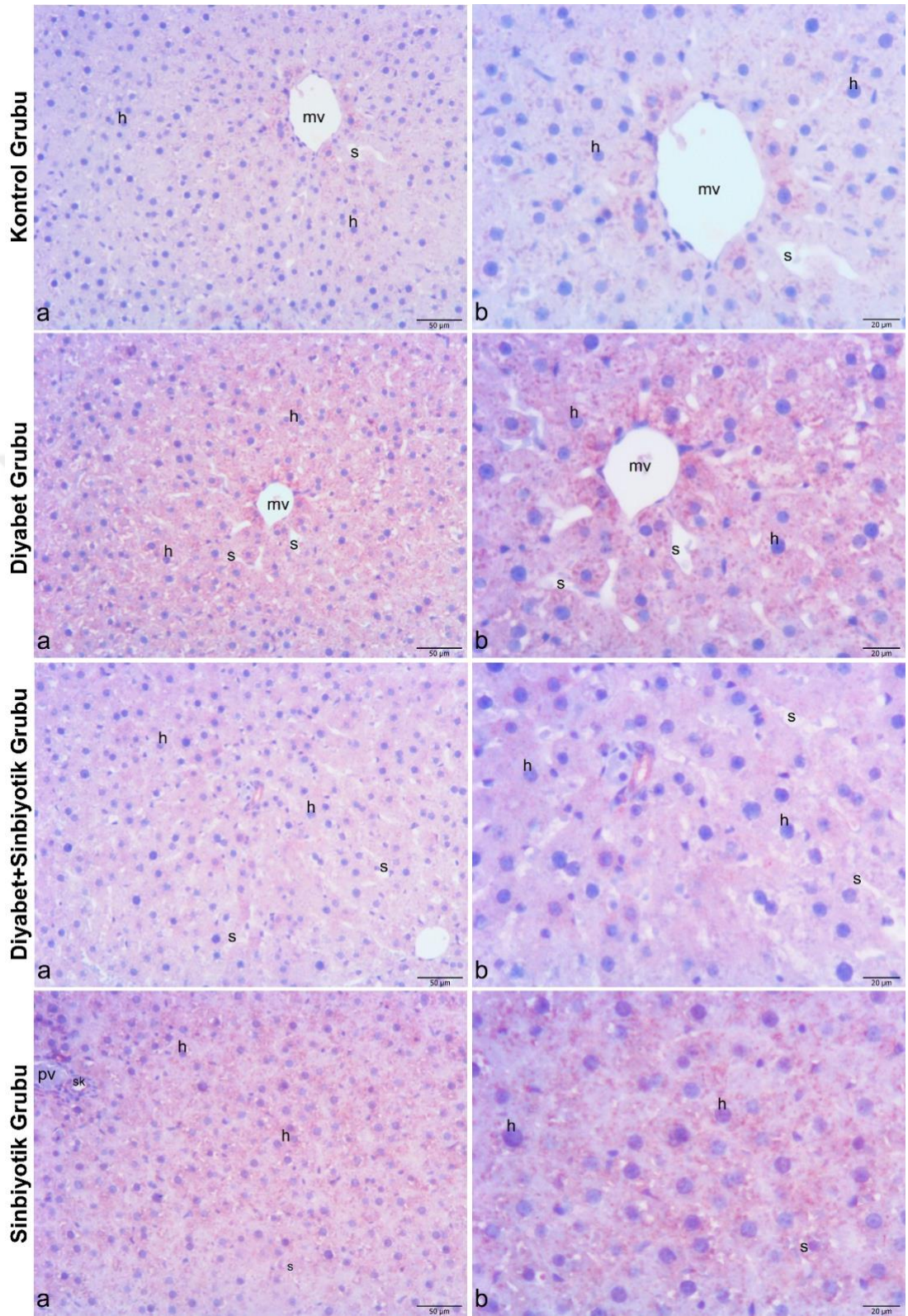
Şekil 4.15: Sinbiyotik grubunun karaciğer kesitlerinde portal ven (pv), safra kanalı (sk), sinüzoidler (s) ve hepatositler (h). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, Masson'un üçlü boyası.

4.3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Deney hayvanlarının karaciğer kesitlerinde, TNF- α reaksiyonları değerlendirildiğinde, deney grupları arasında anlamlı farklılıklar görüldü (Şekil 4.16). Diyabet grubunda, TNF- α reaksiyonunun, kontrole göre arttığı ($p<0,001$) (Şekil 4.16) ve merkezi ven epitelinde, hepatositlerde ve sinüzoidlerde olduğu belirlendi (Şekil 4.17). Diyabet + sinbiyotik grubunda diyabet grubuna göre TNF- α reaksiyonunun azaldığı ($p<0,05$) (Şekil 4.16) ve kontrole benzediği gözlemlendi (Şekil 4.17). Sinbiyotik grubunda TNF- α reaksiyonunun kontrole göre arttığı ($p<0,001$) belirlendi (Şekil 4.16-4.17).

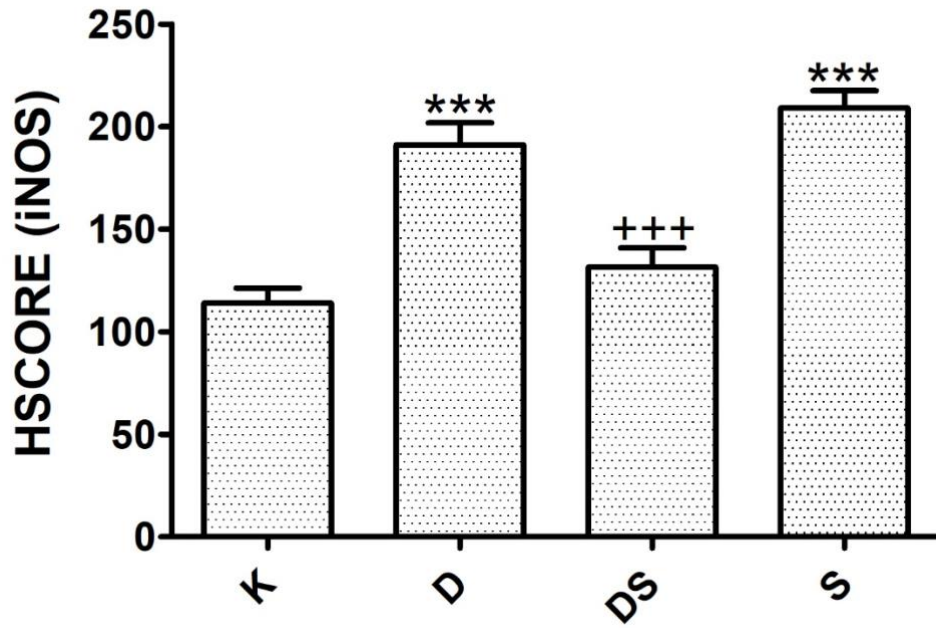


Şekil 4.16: HSCORE değerlendirilmesine göre deney gruplarında TNF- α reaksiyonu. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

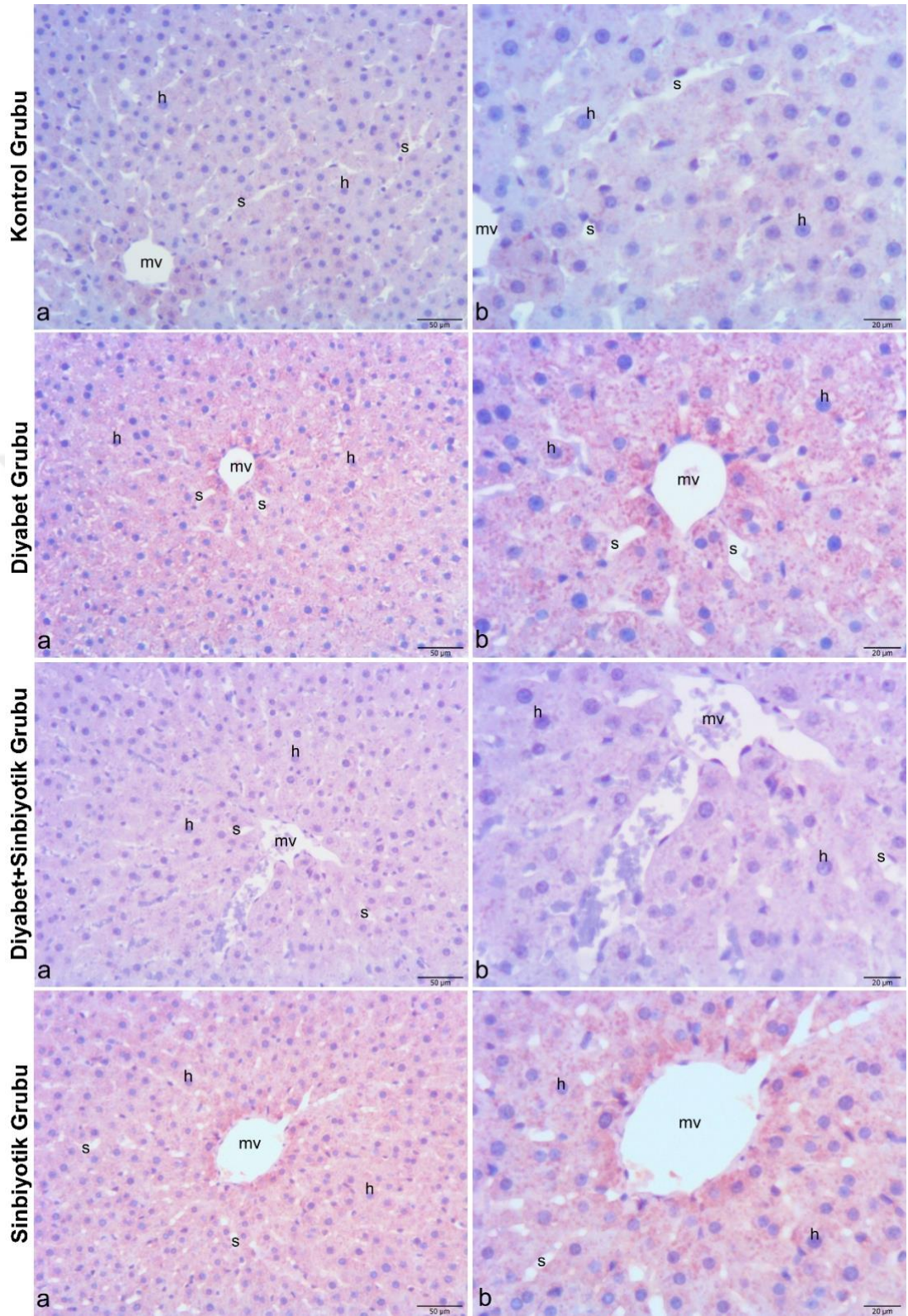


Şekil 4.17: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde TNF- α reaksiyonu. Hepatositler (h), merkezi ven (mv) ve sinüzoidler (s). a) Bar=50 μ m, b) Bar=20 μ m.

Deney hayvanlarından alınan kesitlerde, iNOS reaksiyonları değerlendirildiğinde, deney grupları arasında anlamlı farklılıklar görüldü (Şekil 4.18). Diyabet grubunda, iNOS reaksiyonunun hepatositlerde ve Kupffer hücrelerinde olduğu, özellikle merkezi ven etrafında reaksiyonun daha fazla olduğu (Şekil 4.19) ve kontrole göre arttığı ($p<0,001$) belirlendi (Şekil 4.18). Diyabet + sinbiyotik grubunda iNOS reaksiyonunun diyabet grubuna göre azaldığı ($p<0,001$) ve kontrole benzediği belirlendi (Şekil 4.18-4.19). Sinbiyotik grubunda iNOS reaksiyonunun kontrole göre arttığı ($p<0,001$) tespit edildi (Şekil 4.18-4.19).

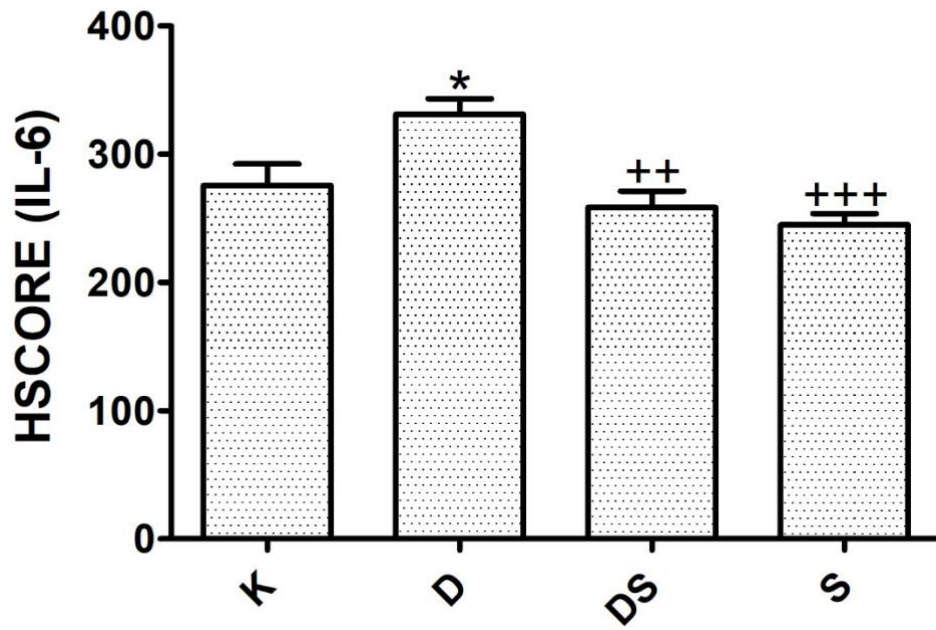


Şekil 4.18: Deney gruplarında HSCORE değerlendirilmesine göre iNOS reaksiyonu. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++ $p<0,001$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

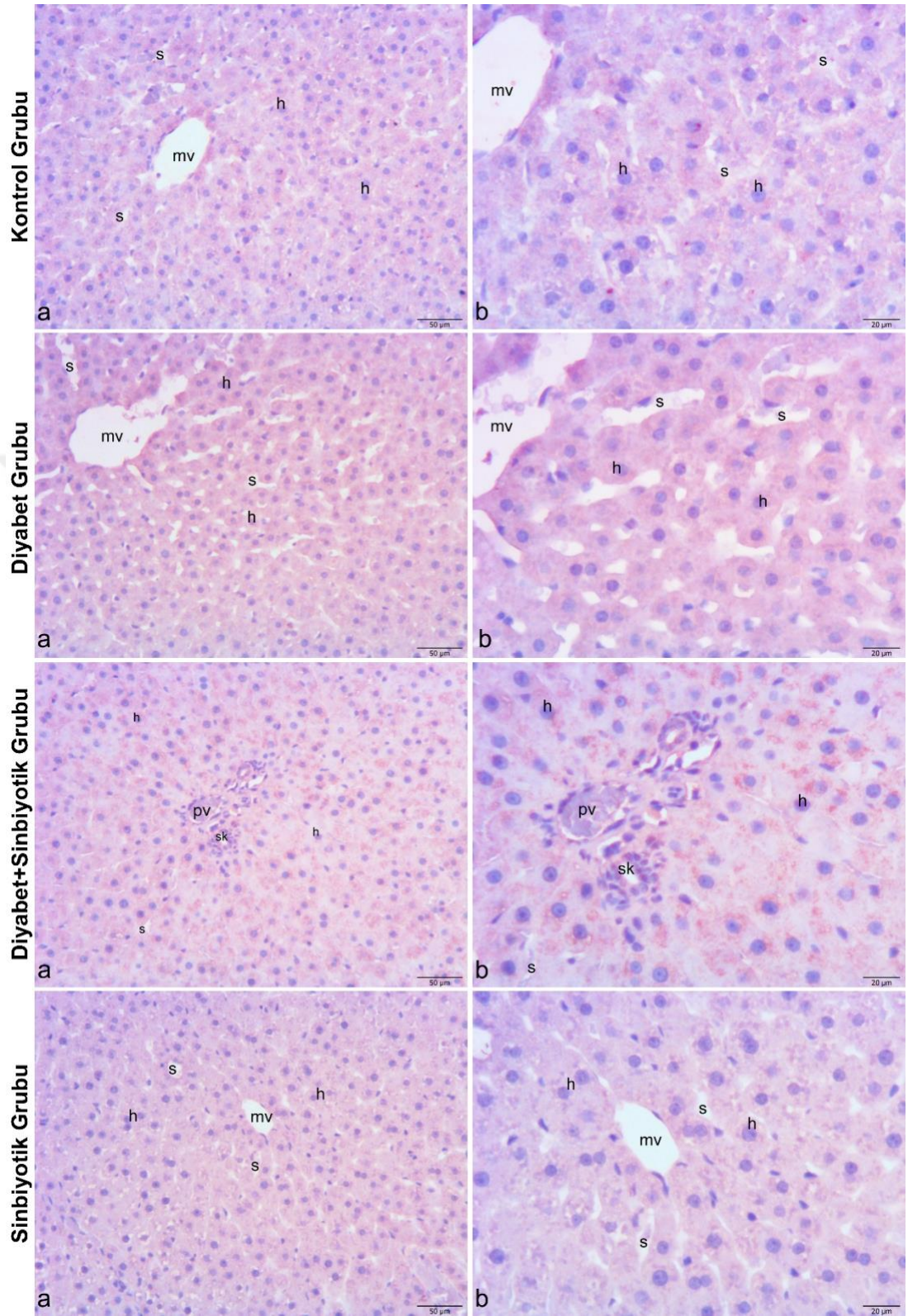


Şekil 4.19: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde iNOS reaksiyonu. Hepatositler (h), sinüzoidler (s), merkezi ven (mv). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm.

Deney hayvanlarının karaciğer kesitlerinde, IL-6 reaksiyonları değerlendirildiğinde deney grupları arasında anlamlı farklılıklar görüldü (Şekil 4.20). Diyabet grubunda, IL-6 reaksiyonunun hepatositlerde, merkezi ven endotelinde ve sinüzodilerde olduğu ve kontrole göre arttığı ($p<0,05$) belirlendi (Şekil 4.20-4.21). Diyabet + sinbiyotik grubunda IL-6 reaksiyonu diyabet grubuna göre azaldığı ($p<0,01$) ve kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.20-4.21). Sinbiyotik grubunda IL-6 reaksiyonunun kontrole benzer olduğu tespit edildi (Şekil 4.20-4.21).



Şekil 4.20: Deney gruplarında HSCORE değerlendirilmesine göre IL-6 reaksiyonu. * $p<0,05$; Kontrol grubuna göre anlamlılık, +++ $p<0,001$, ++ $p<0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

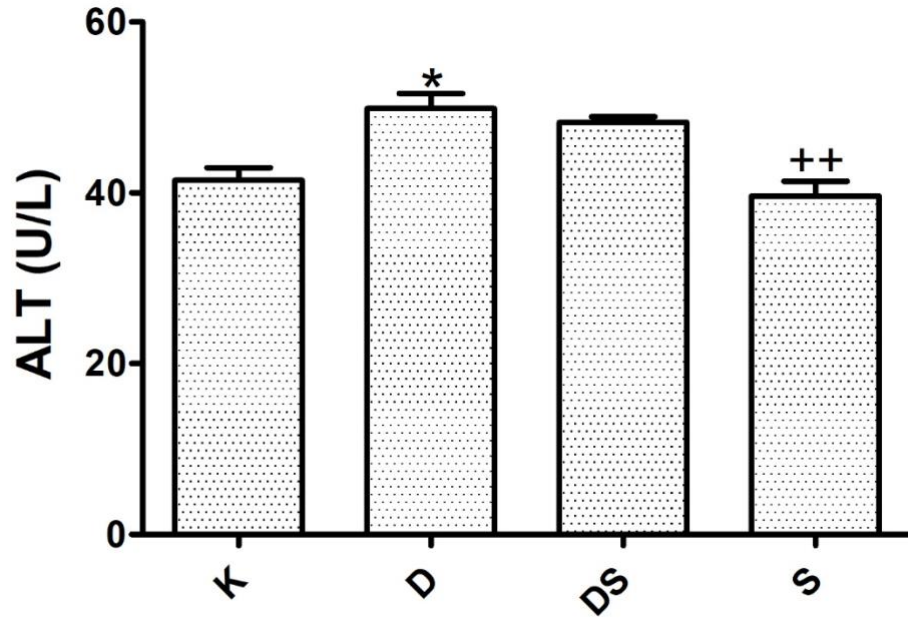


Şekil 4.21: Deney gruplarının karaciğer kesitlerinde IL-6 reaksiyonu. Hepatositler (h), sinüzoidler (s), merkezi ven (mv), portal ven (pv), safra kanalı (sk). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm.

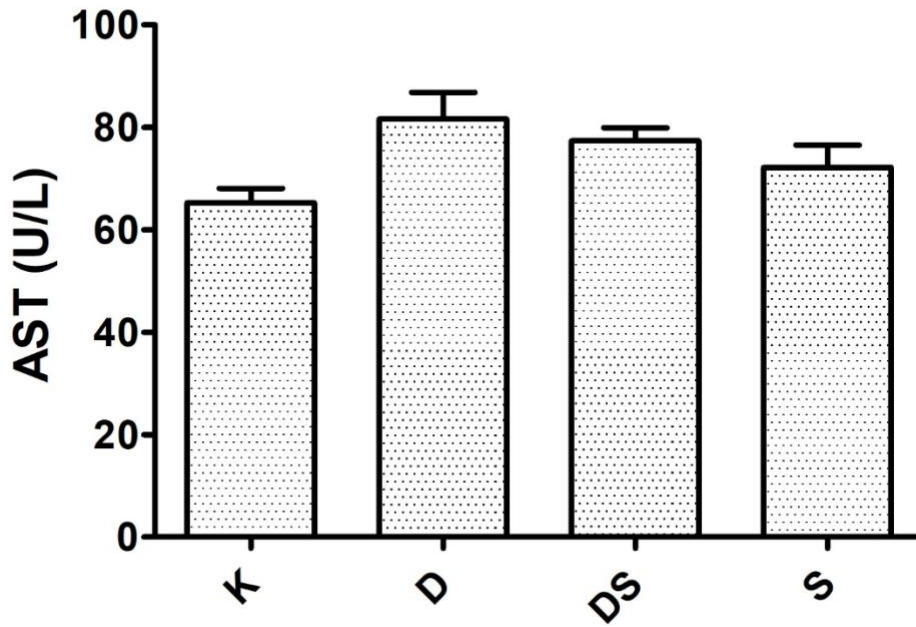
4.4.BİYOKİMYASAL BULGULAR

Deney gruplarında bulunan hayvanlardan alınan serum örneklerinde ALT seviyelerinde gruplar arasında farklılıkların olduğunu görüldü (Şekil 4.22). Diyabetik hayvanlardan alınan serumlarda ölçülen ALT seviyelerinin kontrole göre arttığı ($p<0,05$) gözlemlendi (Şekil 4.22). Diyabet + sinbiyotik ile sinbiyotik grupta ALT seviyesinin kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.22). Deney gruplarının serum örneklerindeki AST seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü (Şekil 4.23).



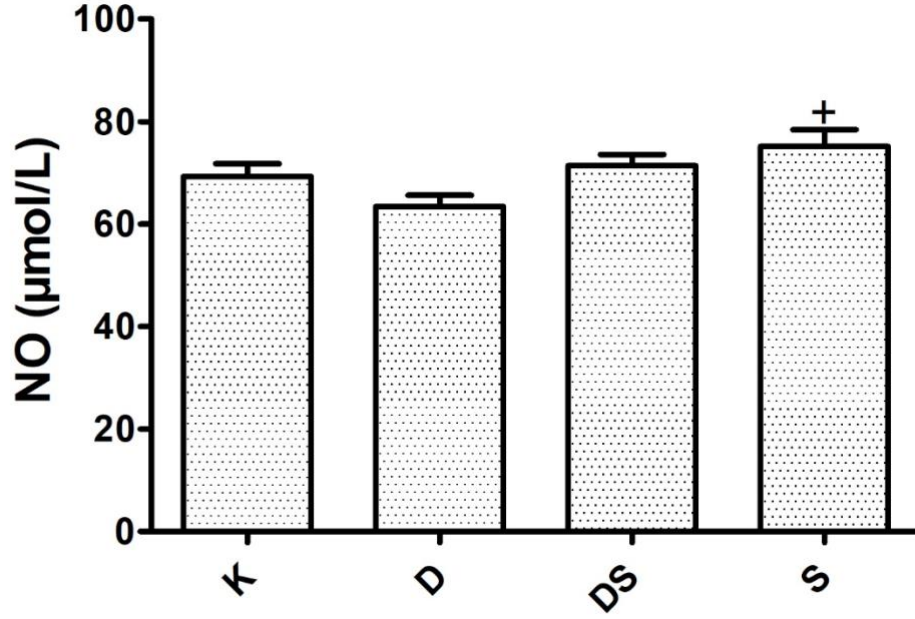


Şekil 4.22: Deney gruplarına ait hayvanların serumlarındaki ALT değerleri. * $p < 0,05$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p < 0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.



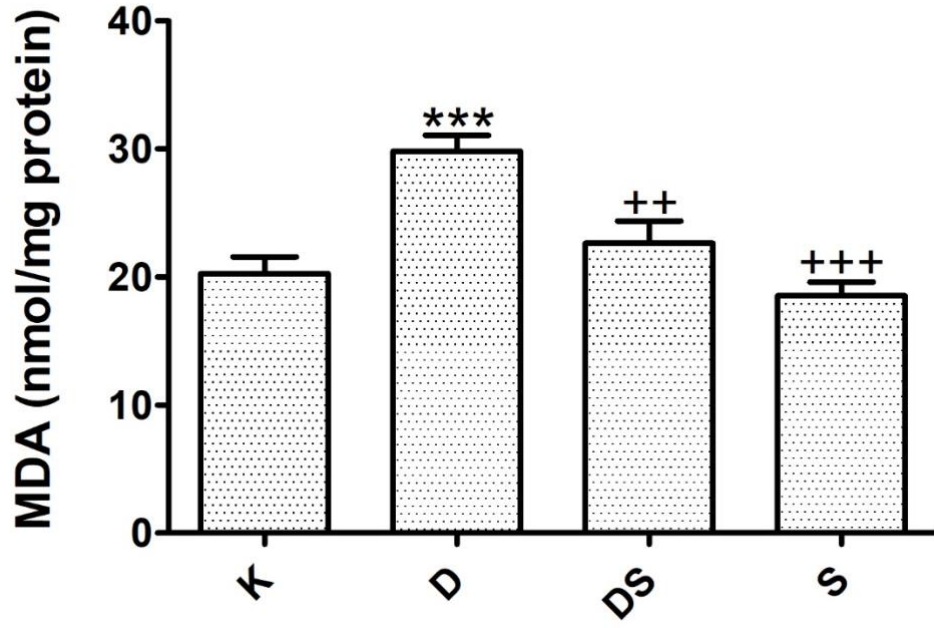
Şekil 4.23: Deney gruplarına ait hayvanların serumlarındaki AST değerleri.

Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer doku homojenatlarında NO seviyeleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı ve deney gruplarının kontrole benzediği belirlendi (Şekil 4.24).



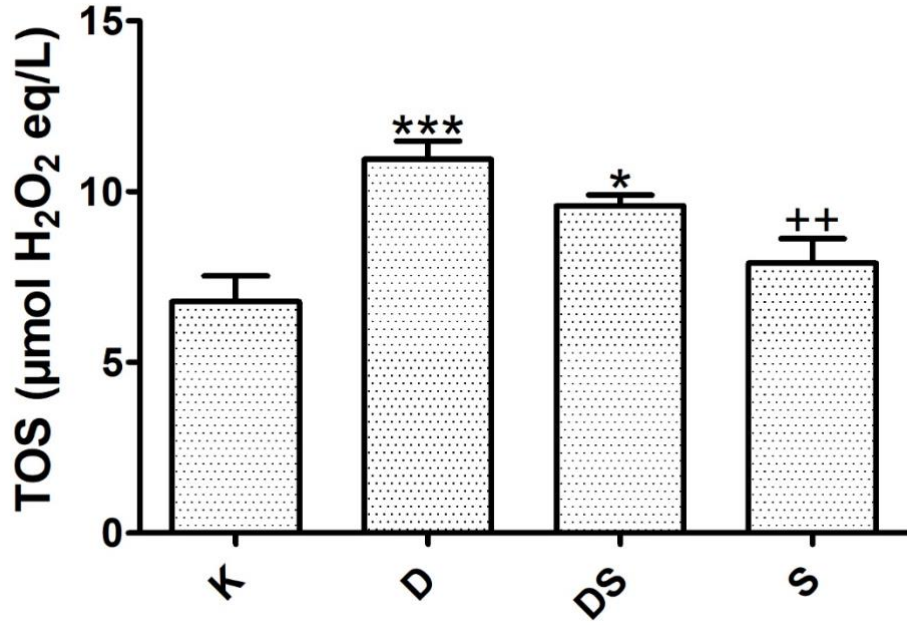
Şekil 4.24: Deney hayvanlarına ait hayvanların karaciğer dokularındaki NO değerleri.

Deney hayvanlarının karaciğer dokusundan elde edilen süpernatantlarda MDA seviyelerine bakıldığında, diyabet grubunda kontrole göre bir artışın olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Diyabet + sinbiyotik grubun karaciğerlerindeki MDA seviyeleri diyabet grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı ($p<0,01$) ve kontrole benzediği görüldü. Sinbiyotik grubunda MDA seviyesinin kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.25).



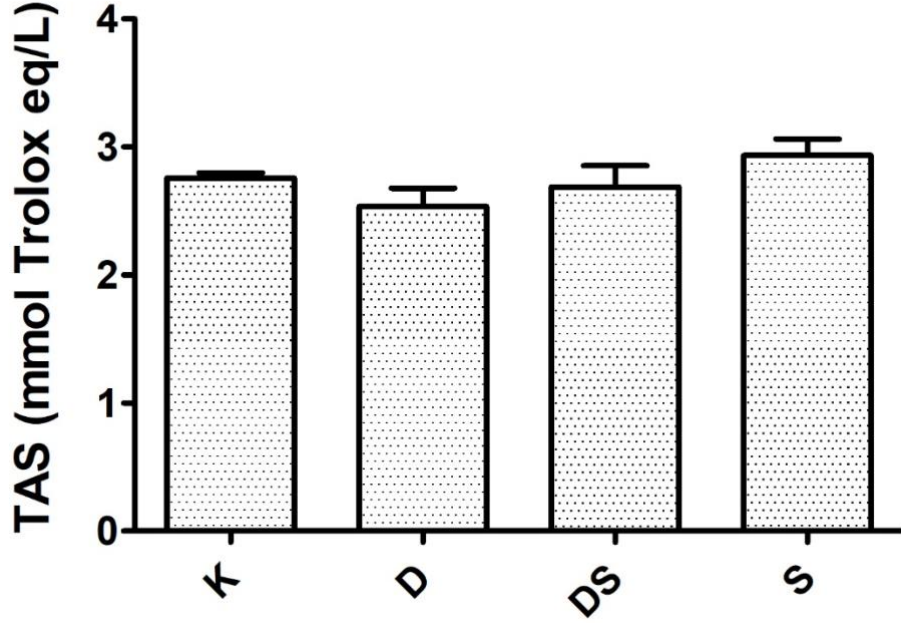
Şekil 4.25: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında MDA değerleri. *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

Deney hayvanlarından alınan karaciğer örneklerinde TOS değerleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar görüldü (Şekil 4.26). Diyabet grubundaki TOS seviyesinde kontrol grubuna göre bir artışın ($p<0,001$) olduğu görüldü (Şekil 4.26). Diyabet + sinbiyotik grubunda TOS değerinin azaldığı, ancak kontrole göre yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$). Sinbiyotik grubunda da TOS değerinin kontrole benzediği tespit edildi (Şekil 4.26).



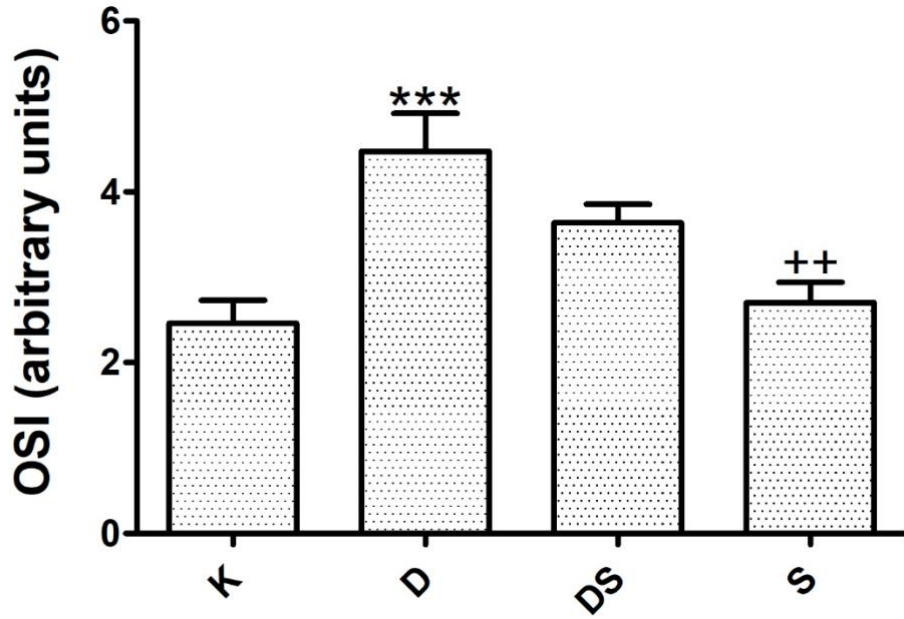
Şekil 4.26: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında TOS değerleri. * $p<0,05$, *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer örneklerinde TAS seviyeleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı ve deney gruplarının kontrole benzediği belirlendi (Şekil 4.27).



Şekil 4.27: Deney gruplarının karaciğer dokularında TAS değerleri.

Oksidatif stres indeksi (OSI), TAS ve TOS değerleri belirlendikten sonra $(TOS / TAS) \times 100$ formülü kullanılarak belirlendi. Deney hayvanların OSI değerleri incelendiğinde gruplar arasında farklılıkların olduğu belirlendi. Diyabet grubuna ait OSI değerinin kontrole göre arttığı ($p < 0,001$) görüldü. Diyabet + Sinbiyotik grubunda OSI değerinin düştüğü ve kontrole benzer olduğu belirlendi. Sinbiyotik grubunda da OSI değerlerinin kontrole benzediği belirlendi (şekil 4.28).



şekil 4.28: Deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularında OSI düzeyleri. *** $p < 0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p < 0,01$; Diyabet grubuna göre anlamlılık.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabet, dünya çapında yaygın bir metabolik hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Bağırsakta mikrobiyom homeostazında meydana gelecek bir dengesizliğin zararlı olabileceği ve bağırsak disbiyozunun da hem T1D'nin hem de T2D'nin patogenezi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Opara ve Dagogo-Jack, 2019). Bağırsak mikrobiyotasının doğuştan gelen bağışıklık sistemi ile etkileşiminin, T1D'ye yatkınlığı değiştiren kritik bir epigenetik faktör olduğu beyan edilmiştir (Wen ve diğ. 2008). Mikrobiyomun T1D duyarlılığındaki etkisi üzerine yapılan araştırmaların çoğu, genetik yatkınlık ve otoimmünite üzerine olan araştırmaları kapsamaktadır. Aksine T2D durumunda, metabolik endotoksemi, NAYKH ve obezitenin bağırsak mikrobiyomunu değiştirdiği ve her birinin T2D gelişimine neden olabileceği gösterilmiştir. (Opara ve Dagogo-Jack, 2019). Çevresel faktörler, bağırsak mikrobiyotasını etkiler ve potansiyel olarak T1D başlangıcına katkıda bulunur. Doğum şekli, yaşamın erken döneminde beslenme ve antibiyotik kullanımı gibi çevresel faktörler, bağırsak mikrobiyota bileşimini etkileyebilir ve daha düşük bakteri çeşitliliğine, düşük SCFA üretimine ve artan bağırsak geçirgenliğine yol açabilir (Dedrick ve diğ. 2020).

Bağırsak mikrobiyal bileşiminin, sağlıklı konakçılar ve T1D'li veya T1D riski taşıyan konaklar arasında farklılık gösterdiğini bilinmektedir (Han ve diğ. 2018). Diyabet ve ilgili hastalıklara sahip olan insanların farklı bağırsak bakteri bileşimine sahip olduğu bilinmekle birlikte, diyabete eşlik eden komplikasyonların spesifik bağırsak mikrobiyom işaretleri henüz bulunamamıştır. Mevcut çalışmalarda, diyabetik komplikasyonlarda görülen bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, genellikle bütirat üreten bakteriler ve safra asitlerinin metabolizmasında yer alan bakteriler gibi faydalı bakterilerde azalma ve patojen bakterilerde artış olarak kendini göstermektedir (Yang ve diğ. 2021). Çeşitli besinlerin tüketilmesi, bağırsak mikrobiyotasının yapısını ve aktivitesini şekillendirebilir, bu da konakçı tarafından emilen ve çeşitli fizyolojik süreçlerde yer alan çok sayıda molekül üretilmesine sebep olabilir (Han ve diğ. 2018). Diyetle alınan prebiyotiklerin ve/veya probiyotiklerin bağırsak mikrobiyal kompozisyonunu değiştirdiği, insanlarda ve hayvanlarda diyabetin gelişimini ve patogenezi etkilediği gösterilmiştir (Everard ve diğ. 2011; Mahboobi ve diğ. 2018; Dehghan ve diğ. 2014; Yadav ve diğ. 2008; Kim ve diğ. 2018). Bizim çalışmamızda da diyabetik hayvanlara probiyotik ve prebiyotik kombinasyonu olan sinbiyotik uygulanmasının kan şekeri, vücut ağırlığı, doku hasarı, sitokinler ve oksidatif stres üzerinde etkileri olduğu belirlenmiştir.

Mikroorganizmalar konakçının kan glikozunu etkileyebilir, ancak kan glikozu da mikrobiyotayı ve konakçının spesifik bakterilere verdiği yanıtı veya sonuçları etkileyebilir. Mikroorganizmalar ve konak metabolizması arasındaki ilişki çift yönlüdür. Kan şekeri seviyeleri, bakteriyel uygunluğu, istilacılığı ve işlevi değiştirebilir, sonuçta glisemi, konakçının bakterilere verdiği yanıtı etkileyebilir (Anhê ve diğ. 2020). Bakteri hücre duvarı bileşeni olan muramil dipeptid, bağışıklık toleransını teşvik eden, obezite ve endotoksemi gibi durumlarda kan glikozunu düşüren, böylece mikroorganizmalar ve konakçı arasında karşılıklı bir etkileşime katkıda bulunan insülin duyarlılaştırıcı bir ajandır. Öte yandan, bakteriyel LPS ve mezo-diaminopimelik asit muropeptitleri gibi diğer hücre duvarı bileşenleri, konakta insülin direncini ve zayıf glisemik kontrolü teşvik eden bağışıklık cevaplarını devreye sokmaktadır. Çoğu mikroorganizma, kommensalizm gösterir ve en azından uygun şekilde bölümlere ayrılmış nişleri kolonize ederken, normal bakteri yüklerinde kan şekerini anlamlı şekilde değiştirmez (Anhê ve diğ. 2020). Mikrobiyota disbiyozu, dolaşımda ve dokuda yerleşik mikrobiyal bileşenlerde bir artışa katkıda bulunabilir ve bu da inflamasyona bağlı insülin direncini destekleyebilir (Cani ve diğ. 2007; Cani ve diğ. 2008).

Ejtahed ve diğ. (2012), diyabetik hayvanlara probiyotik yoğurt uygulamasının açlık kan şekerini ve hemoglobin A1c'yi önemli ölçüde azalttığını rapor etmiştir. Kasińska ve Drzewoski (2015), probiyotik takviyesinin en azından bir dereceye kadar diyabetli kişilerde metabolik kontrolü düzeltebileceğini belirtmişlerdir. Yun ve diğ. (2009) ise 12 hafta boyunca günde iki kez anne sütünden elde edilen *Lactobacillus gasseri* probiyotiğinin *db/db* farelere verilmesinin, kan şekeri düzeylerini düşürdüğünü ve diyabetle ilişkili semptomları iyileştirdiğini ileri sürmüştür. Obez ve diyabetik farelerde spesifik bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinin, glikoz homeostazını, leptin duyarlılığını ve hedef enteroendokrin hücre aktivitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (Everard ve diğ. 2011). İnsülin, pioglitazon ve sinbiyotik birleşiminin, diyabetik sıçanlarda, kan glikoz konsantrasyonunu ve lipid profilini düzeltebileceği belirtilmiştir (Kavitha ve diğ. 2016). Randomize kontrollü çalışmaların bir meta-analizi, prebiyotikler veya sinbiyotiklerle desteklenen diyetlerin, T2D'li hastalarda lipid metabolizmasında ve glikoz homeostazında düzeltilmeye yol açabileceğini göstermiştir (Mahboobi ve diğ. 2018). Diyabetli hastalarda glisemik durum, lipid profili ve bağışıklık belirteçlerinin iyileştirilmesi üzerinde oligofruktozla zenginleştirilmiş inülinin çeşitli yararlı etkileri rapor edilmiştir (Dehghan ve diğ. 2014). İnulin tipi fruktan takviyesinin de lipid profilini ve glikoz metabolizmasını iyileştirmek için yeni bir yön sağlayabileceği ileri sürülmüştür (Liu ve diğ. 2017).

Bizim çalışmamızda, diyabetik hayvanların kan glikoz seviyeleri deney başlangıcından itibaren bir hafta aralıklarla ölçülerek değerlendirildiğinde, diyabetik hayvanlardan kan glikoz seviyesinin kontrole göre arttığı tespit edildi. Diyabetik hayvanlara sinbiyotik uygulandığında, hayvanların kan glikoz değerlerinin diyabet grubuna göre 21. günde azaldığı belirlendi. Daha önce ifade edilen ve diyabetik hayvanlarda mikrobiyotanın düzenlenmesi için prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik uygulamasının glikoz metabolizması üzerinde etkili olabileceğini gösteren çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da diyabetik hayvanlara sinbiyotik uygulamasının kan şekeri üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Mutlak insülin eksikliği, anabolik süreçlerin bozulmasına, dolayısıyla glikozun hücrelere girememesine ve kanda artmasına neden olmaktadır. Sonuçta meydana gelen hiperglisemi, aşırı idrara çıkmaya, ardından su kaybını telafi etmek için aşırı susuzluğa ve sonrasında hücrelerde glikoz eksikliğine neden olur. Hücrelerde glikoz eksikliği, ayrıca açlık mekanizmasını veya polifajiyi uyaran bir açlık durumuna neden olur. Artan gıda alımı insülin yokluğundan dolayı hücreler için yeterli olamaz ve hiperglisemi, poliüri ve dehidrasyonu arttırdığı için soruna katkıda bulunur. Hücresel açlık durumu, artan gıda alımına rağmen kilo kaybına neden olur (Guthrie ve Guthrie, 2004).

Bağırsak mikrobiyotası ve SCFA'lar gibi metabolitleri, kilo kontrolü için büyük önem taşıyan gıda alımını, enerji oluşumunu/depolamasını ve tüketimini düzenleyerek konakçı-enerji metabolizmasını etkileyebilir (Chen ve diğ. 2019). Bu nedenle, bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi, kilo yönetimi için yeni bir terapötik yaklaşım sağlayabilir. Bu bağlamda, bağırsak mikroekosistemini düzenlemeye yönelik bir yöntem olarak probiyotik, prebiyotik veya sinbiyotik uygulaması birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir (Chen ve diğ. 2019). Probiyotikler ve prebiyotikler hem sağlığa faydalı maddelerdir hem de birleştirildiklerinde sinbiyotikleri oluşturarak kapsamlı terapötik faydalar sağlamak için sinerjik etkiler oluşturabilirler. Sinbiyotik takviyelerinin diyabetli hastalarda glikoz ve lipid metabolizmasını iyileştirebileceği gösterilmiştir (Kavitha ve diğ. 2016), ancak prebiyotiklerin, probiyotiklerin ve sinbiyotiklerin vücut ağırlığı ve inflamasyon belirteçleri üzerindeki etkileri hala tartışmalıdır.

Zhan ve diğ. (2018), diyabetik sıçanların düşük vücut ağırlığı sergilediğini, inülin ile tedavi edildiğinde diyabetik sıçanların vücut ağırlıklarının arttığını belirlemiştir. T2D'li obez hastalarda *Lactocaseibacillus paracasei* suşu Shirota, *Bifidobacterium breve* suşu Yakult ve

galaktooligosakkaritlerden oluşan bir sinbiyotiğin 24 haftalık uygulanmasının deney boyunca vücut kitle indeksinde ve seviyelerinde önemli bir değişime yol açmadığı ileri sürülmüştür (Kanazawa ve diğ. 2021). Sinbiyotik uygulaması yapılan obez grubun ortalama vücut ağırlığının ve vücut kitle indeksinin obez gruba göre önemli ölçüde farklılık göstermediği rapor edilmiştir (Anggeraini ve diğ. 2021). *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724, oligofruktoz ve inülin uygulanan obez kadınlarda ortalama kilo kaybı, ilk 12 haftadan sonra plasebo grubundaki kadınlardan anlamlı derecede yüksek olduğu, erkeklerde ise benzer olduğu tespit edilmiştir (Sanchez ve diğ. 2014). Bir probiyotik olan *Lactobacillus gasseri* SBT2055'in, abdominal yağlanma ve vücut ağırlığı üzerinde azaltıcı etkiler göstererek, metabolik bozukluklar üzerinde yararlı etkisi olabileceği ortaya konmuştur (Kadooka ve diğ. 2010). Diğer yaşam tarzı değişikliklerinden bağımsız olarak, oligofruktoz takviyesi, aşırı kilolu yetişkinlerde kilo kaybını teşvik etme ve glikoz regülasyonunu iyileştirilme potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (Parnell ve Reimer, 2009). NAYKH olan kişilerde mikrobiyom hedefli tedavilerin karaciğere özgü ve metabolik etkilerine ilişkin güncel kanıtları değerlendiren bir derlemede, tedavi süresi 8 ila 28 hafta arasında değişen 9 probiyotik ve 12 sinbiyotik değerlendirilmiş, yirmi bir randomize kontrollü çalışmada (1252 katılımcı), sinbiyotiklerin aksine probiyotiklerin vücut kitle indeksinde önemli bir azalma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Sharpton ve diğ. 2019). NAYKH olan hastalarda, toplam 1309 hasta içeren prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik uygulamalarının değerlendirildiği 25 çalışmayı gözden geçiren ve değerlendirilen bir meta analizde, mikrobiyal terapilerin vücut kitle indeksini, hepatik enzimlerini ve serum kolesterolünü önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Loman ve diğ. 2018).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda, diyabet ve çeşitli ilgili hastalıklarda prebiyotik, probiyotik veya sinbiyotik terapilerin bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek vücut ağırlığı üzerinde farklı etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda, sinbiyotik uygulamasının diyabetik hayvanların vücut ağırlıklarında deney sonunda anlamlı bir artışa neden olduğu görülmüştür. Bunun sonucunda da diyabetik hayvanlarda sinbiyotik uygulamasının vücut ağırlığını artıran önemli bir role sahip olduğu düşünülmüştür.

Diyabet, vücuttaki pek çok organa veya sisteme zarar verebilmektedir. Etkilenen organlardan biri de karaciğerdir. Diyabete bağlı karaciğer hasarının nedenleri içerisinde oksidatif stres, inflamatuvar hücreleri, karaciğer hücreleri veya yağ hücreleri tarafından toksik inflamatuvar proteinlerin (sitokinler) üretimi ve salınımı, karaciğer hücresinin apoptozu veya ölümü,

lökositler tarafından neden olunan yağ dokusu iltihabı ve infiltrasyonu bulunmaktadır (Mohamed ve diğ. 2016). İnflamasyon ve hücre nekrozu aracılığıyla oluşan kimyasal araçlar ve adipokinler, karaciğer satellit hücrelerini aktive eder ve onları, kollagen üretimini, bağ dokusu büyümesini, vücut kitle indeksi faktörünü ve hücre dışı matris birikimini artırmak için indükleyerek fibrozu destekler (Garcia-Compean ve diğ. 2009).

Bizim çalışmamızda, diyabetli hayvanların karaciğerler kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde kontrole göre belirgin hasarın olduğu tespit edildi. Karaciğerde sinüzoidlerin genişlediği ve merkezi ven endotellerinde düzensizliklerin olduğu, bazı portal alanlarda inflamasyonun ve bağ doku artışının olduğu görüldü. Sinbiyotik uygulamasının doku hasarını önemli ölçüde azalttığı, ancak kontrole göre halen belirgin bir hasarın olduğu tespit edildi. Çalışmamızda diyabetik hayvanların plazmasında karaciğer hasarının en önemli göstergeleri olan AST ve ALT seviyelerine bakıldığında ALT değerlerin artması, diyabetteki karaciğerde hasarın ve dolayısıyla fonksiyonda bozukluğun olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca diyabet grubunda kanda NO değerlerinin değişmemesine karşın MDA ve TOS değerlerinin artması, dokuda da iNOS, TNF- α ve IL-6'nın artması karaciğerde oksidatif strese bağlı olarak değişikliklerin meydana geleceğini düşündürmüştür. Sinbiyotik uygulanan diyabetik hayvanlarda, AST, ALT, MDA ve TOS seviyelerinin kontrole yaklaşmış olması, diyabet ile oluşan oksidatif stresin sinbiyotik uygulanması ile modüle edilebileceğini işaret etmektedir. Sinbiyotik uygulanan kontrol gruplarında da dokuda hasarın görülmesine, iNOS ve TNF- α 'nin artmasına karşın AST, ALT, MDA, NO ve TOS değerlerinin kontrole benzer olması hasarın karaciğer fonksiyonlarına etki edecek düzeyde oksidatif strese neden olmadığını düşündürmektedir.

Güncel araştırmalarda bağırsak mikrobiyotasını modüle etmek için yaygın olarak kullanılan probiyotiklerin, prebiyotiklerin ve sinbiyotiklerin diyabetik hastalarda inflamatuvar faktörler ve oksidatif stresin biyobelirteçleri üzerindeki etkileri incelemiştir. Çeşitli araştırmalarda probiyotikler ve prebiyotikler, mikrobiyotadaki değişiklikler yoluyla anti-diyabetik etkiler gösterebildiği ve bu sebeple bağırsak florasının probiyotik ve/veya prebiyotik takviyesi ile düzenlenmesinin, diyabetin önlenmesi ve tedavisi için iyi bir yöntem olabileceği öne sürülmüştür (Everard ve diğ. 2011; Mahboobi ve diğ. 2018; Dehghan ve diğ. 2014; Yadav ve diğ. 2008; Kim ve diğ. 2018).

Probiyotiklerin en önemli anti-diyabetik etkileri, proinflamatuvar sitokinlerin, bağırsak geçirgenliğinin ve oksidatif stresin azaltılması şeklinde sıralanabilir (Kim ve diğ. 2018). STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda *Lactobacillus casei* Shirota takviyesinin artan CRP ve IL-6 seviyelerinde düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir (Zarfeshani ve diğ. 2011). STZ ve yüksek yağlı bir diyet tarafından indüklenen diyabetli farelerle yapılan başka bir çalışmada *Lactobacillus casei* CCFM0412 uygulamasının, endotoksin, TNF- α , ROT ve MDA düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, IL-10, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon düzeylerini ise önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Chen ve diğ. 2014). *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* içeren probiyotik destekli diyetin, yüksek fruktoz ile indüklenen diyabetik sıçanlarda glikoz intoleransı, hiperinsülinemi, hiperglisemi, dislipidemi ve oksidatif stresin başlamasını önemli ölçüde geciktirdiği tespit edilmiştir (Yadav ve diğ. 2007). Yadav ve diğ. (2008), STZ uygulanmış diyabetik sıçanlarda *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* içeren probiyotiğin oral olarak uygulanmasının, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini, total nitrit artışını azalttığını, SOD ve CAT aktivitesini koruduğunu göstermişlerdir ve bu verilerin ışığında deneklerin pankreas dokusunda oluşması beklenen oksidatif hasarın baskılandığı sonucuna varmışlardır. *Lactobacillus acidophilus*'un T2D'li fareler üzerindeki anti-diyabetik etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bu probiyotik türlerin 6 hafta boyunca oral yoldan verilmesinin, epiteliyal bariyer fonksiyonunu önemli ölçüde iyileştirdiği, karaciğer ve kolon dokusunda IL-8, TNF- α ve IL-1 β dahil olmak üzere inflamasyon sitokinlerini azalttığı, bir dereceye kadar karaciğer ve kolon dokusu yaralanmalarını önlediği, glikoz ve lipid metabolizması ile ilgili ekspresyon genlerini düzenlediği belirlenmiştir (Yan ve diğ. 2019). Diyabetik sıçanlarda *Lactobacillus acidophilus*'un tek başına veya akarboz ile birlikte uygulanmasının etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, bu uygulamanın diyabetik sıçanlara kıyasla yükselmiş MDA'yı önemli ölçüde azalttığı ve plazma nitrat düzeyini önemli ölçüde yükselttiği belirlenmiştir. Bu verilere göre, probiyotik ve akarboz takviyesinin hipoglisemik, hipotrigliseridemik, antioksidan etkiler gösterdiği ve bu etkilerin NO seviyesinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır (Harisa ve diğ. 2009). Hsieh ve diğ. (2020)'in yaptığı bir hayvan çalışmasında, *Lactobacillus reuteri* GL-104 ve/veya *Lactobacillus salivarius* AP-32 ile beslenen diyabetik farelerde, diyabetin aracılık ettiği karaciğer ve böbrek hasarının azaldığı rapor edilmiştir. Benzer bir şekilde, diyetle birlikte uygulandığında *Lactobacillus salivarius* Li01'in akut karaciğer hasarı ve hepatik ensefalopati üzerinde pozitif etkili bir probiyotik olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir (Yang ve diğ. 2020). *db/db* farelere

deve sütünden elde edilen probiyotiklerin uygulanması ile yapılan çalışmalarda, probiyotik uygulamasının, inflamatuvar sitokinleri aşağı doğru düzenlediği, IL-10 sentezini arttırdığı, karaciğer ve böbrek hasarı üzerinde iyileştirici etki gösterdiği ve DM başlangıcını engellediği gösterilmiştir (Priyadarsini ve diğ. 2015; Manaer ve diğ. 2021). Ejtahed ve diğ. (2012), diyabetik hastalarda probiyotik yoğurt uygulamasının SOD aktivitesini ve toplam antioksidan durumu arttırdığını, serum MDA konsantrasyonunu ise başlangıç değerine kıyasla önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Probiyotiklerin etkilerinin incelendiği bir meta analizde, T2D'li hastalarda probiyotik takviyesinin açlık plazma glikoz seviyesi, insülin ve CRP ile lipid profili üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilirken (Kasińska ve Drzewoski, 2015), yapılan başka bir meta analizden elde edilen veriler, diyabetik hastalarda probiyotik ve sinbiyotik takviyesinin serum CRP ve MDA düzeylerini önemli ölçüde azalttığını ve TAS ve glutasyon gibi parametreleri artırdığını göstermiştir (Zheng ve diğ. 2019).

Diyabet dışında karaciğer hasarının oluşturulduğu deneysel modellerde de probiyotik terapilerinin oksidatif stres ve mikrobiyota üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalarda yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde, D-galaktozamin enjeksiyonu ile indüklenen bir akut karaciğer hasarı modelinde farklı *Lactobacillus* suşlarının ve bir *Bifidobacterium* suşunun karaciğer hasarı, bakteriyel translokasyon ve bağırsak mikroflorası üzerinde farklı etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus plantarum*'un, bakteriyel translokasyonu ve hepatosellüler hasarı azalttığı, *Bifidobacterium animalis*'in hepatosellüler hasarı etkilemediği belirlenmiştir (Adawi ve diğ. 2001). *Lactobacillus rhamnosus* GG tedavisinin çekal ligasyon ile oluşturulan sepsis modelinde, sıçanlarda deneysel enfeksiyon ve sepsisin ardından karaciğer hasarını azaltabildiği, gelişmiş hipoksik hepatiti iyileştirdiği ve probiyotik tedavisinin, sistemik enfeksiyon ve sepsis sonrası klinik karaciğer hasarını ve hipoksik hepatiti iyileştirmek için probiyotik uygulamasının umut verici bir yöntem olabileceği ileri sürülmüştür (Ding ve diğ. 2019). *Lactobacillus reuteri* GMNL-263'ün oral yoldan verilmesinin, yüksek fruktozlu diyetle beslenen sıçanlarda vücut ağırlığını, karaciğer ağırlığını, yağ dokusu ağırlığını, AST ve ALT seviyelerini azalttığı, insülin direncini, glikoz intoleransını, oksidatif stresi, yağlı karaciğeri ve karaciğer hasarlarını önemli ölçüde iyileştirdiği belirtilmiştir (Hsieh ve diğ. 2013). Farelerde, etanolün indüklediği karaciğer hasarı modelinde, *Lactobacillus plantarum* HFY09 uygulamasının etanolün neden olduğu kilo kaybını engellediğini, AST, ALT ve sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α ,) seviyelerini ve dolayısıyla inflamatuvar yanıtı azalttığı, ayrıca

antioksidan etkiyi arttırdığı ve hasarı iyileştirdiği gösterilmiştir (Gan ve diğ. 2021). Bir meta-analizde, mikrobiyal tedavilerin, hepatik enzimlerini (AST, ALT), serum kolesterolünü, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolünü ve trigliseritleri önemli ölçüde azalttığı, ancak inflamasyonu azaltmadığı gösterilmiştir (Loman ve diğ. 2018). Yüksek yağlı diyet ile oluşturulan hiperlipidemik sıçanlarda, *Lactobacillus casei* Zhang takviyesinin, MDA seviyelerini, AST ve ALT'nin hepatik aktiviteleri önemli ölçüde azaltırken, SOD'ü önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (Wang ve diğ. 2013). Yirmi dört günlük bir süre boyunca oral olarak *Bacillus* SC06 veya SC08 uygulanan ve oksidatif stresi indüklemek için intraperitoneal olarak diquat enjekte edilmiş sıçanlarda *Bacillus*'ların oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hasarına etkileri incelendiği bir çalışmada, elde edilen sonuçlar, *Bacillus* türlerinden özellikle SC06'nın, hasarlı karaciğer yapısını hafifleterek, ALT, AST, alkalen fosfataz ve laktat dehidrogenaz seviyelerini azaltarak karaciğer hasarını önemli ölçüde inhibe ettiğini, MDA'yı azaltarak ve total antioksidan kapasitesi, SOD ve hem oksijenaz-1'i artırarak karaciğer antioksidan kapasitesini belirgin şekilde arttırdığını belirtmişlerdir (Wu ve diğ. 2022).

Prebiyotik olarak adlandırılan besinlerin ana işlevi konak tarafından sindirilememelerine rağmen probiyotik mikroorganizmalar tarafından besin olarak tüketilmeleri ve probiyotiklerin gelişmelerine destek olmalarıdır (Kazemi ve diğ. 2020). Dehghan ve diğ. (2016) diyabet olan 46 hastada yaptıkları bir çalışmada, 2 ay süresince oligofruktozla zenginleştirilmiş inülin alımının, kan basıncını düzelttiğini, serum IL-4, IL-12 ve interferon gama konsantrasyonları da önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. T2D'li hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise 8 hafta boyunca *Lactobacillus sporogenes* ve inülin içeren sinbiyotik ekmek tüketiminin, plazmadaki NO seviyesinde önemli bir artışa, MDA seviyelerinde ise önemli bir azalmaya neden olduğunu, ancak TAS, glutatyon, katalaz, karaciğer enzimi, kalsiyum, demir ile magnezyum seviyelerine ve kan basıncına etki etmediğini göstermişlerdir (Bahmani ve diğ. 2016). Kefir ile desteklenmiş bir beslenme şekline sahip diyabetik sıçanlardan alınan makrofajlarda, LPS'li veya LPS'siz NO üretiminin azaldığı ve sonuçların kontrol grubu verilerine yaklaştığı belirtilmiştir (Maciel ve diğ. 2016). Probiyotiklerin ürettiği üç tip SCFA'nın (asetat, propiyonat ve butirat), LPS ile indüklenen RAW264.7 makrofaj hücrelerinde, IL-6, IL-1 β ve NO üretimini azalttığı ve iNOS'u inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Liu ve diğ. 2012). Cheng ve diğ. (2013) ise *Lactobacillus plantarum* veya *Streptococcus thermophilus* ile fermente edilmiş soya sütü tüketimi üzerine yaptıkları araştırma sonucunda, insan göbek damarı endotel hücrelerinde NO üretiminde ve eNOS aktivitesinde bir artış oldu gözlemlemişlerdir.

Probiyotiklerin diyabete ek olarak farklı deneysel modellerde karaciğer hasarına etkilerine benzer şekilde prebiyotik veya sinbiyotiklerin farklı deneysel modellerde de karaciğer hasarı, oksidatif stres ve mikrobiyota üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Probiyotiklerin veya prebiyotiklerin akut karaciğer hasarı üzerindeki etkilerinin inceledikleri meta-analizde, probiyotiklerin ve prebiyotiklerin, sıkı bağlantı proteini zonula okludens-1'i yukarı doğru düzenlediği, ileum florasını düzelttiğini, bakteri translokasyonu ve endotoksin salınımını azalttığı, oksidatif stresi ve proinflatuvar aracılığı baskıladığı, karaciğer biyokimyasal hasar belirteçlerini düzelttiği ve bu oluşan durumların bağırsak-karaciğer ekseninden akut karaciğer hasarında önemli iyileştirici etkilere sahip olduğu ileri sürülmüştür (Xu ve diğ. 2021). Probiyotik/sinbiyotik kullanımının inflamatuvar bağırsak hastalığı, artrit ve yağlı karaciğer hastalarında, CRP ve TNF- α gibi bazı inflamatuvar belirteçleri azalttığı gösterilmiştir (Kazemi ve diğ. 2020). NAYKH olan kişilerde 9 probiyotik ve 12 sinbiyotik uygulaması yapılmış yirmi bir randomize kontrollü çalışmada (1252 katılımcı) hem probiyotikler hem de sinbiyotikler, kontrole kıyasla ALT'de daha büyük bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (Sharpton ve diğ. 2019). NAYKH'li hastalarda sinbiyotik uygulamasının kontrol grubuna göre, ALT, AST, alkalen fosfataz ve gama glutamil transferazın konsantrasyonlarında ve TOS'ta büyük bir azalma, TAS'ta ise önemli ölçüde bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (Bakhshimoghaddam ve diğ. 2018). *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* ve inulin gibi probiyotik ve/veya prebiyotik tüketiminin NAYKH'li hastalarda vücut ağırlığını, vücut kitle indeksini, bel ve kalça çevresini, TNF- α 'yı önemli ölçüde azalttığı ve serum TAS düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (Javadi ve diğ. 2018).

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik uygulamalarının diyabette ve çeşitli patofizyolojik olaylarda mikrobiyotanın modülasyonu ile oksidatif stres azalttığı ve antioksidan sistem üzerinde olumlu katkıların olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda, sinbiyotik uygulamasının diyabetle oluşan karaciğer hasarının, artan lipid peroksidasyonun ve oksidatif stresin azalmasına katkıda bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, diyabette karaciğer dokusunda inflamatuvar sitokinlerin arttığı, sinbiyotik uygulaması ile bu artışın azaldığı tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak diyabetik bireylerde karaciğer dokusunda artan iNOS dağılımının sinbiyotik uygulamasıyla azalmasına karşın kanda NO seviyesinin değişmediği belirlenmiştir. Sadece sinbiyotik uygulanan grupta, hem dokuda hem de kanda NO artışının görülmesi, mikrobiyota ve NO arasında bir ilişkinin olabileceğine işaret etmekle birlikte elde edilen bulgular bu konuda bir sonuca varmamızı

zorlaştırmıştır. Bu konuda bulunan az sayıdaki çalışmada farklı sonuçlara varılmıştır ve elde edilen bu belirgin farklı sonuçların nedeni henüz açık değildir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda, probiyotik ve prebiyotik kombinasyonu olan sinbiyotik uygulamasının diyabette kan glikozu ve vücut ağırlığı üzerinde etkilerinin olduğu, karaciğer hasarının, dokuda artan inflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stresin azalmasına neden olduğu, dolayısıyla elde ettiğimiz bulgularımız, sinbiyotik uygulamasının diyabette görülen komplikasyonların engellenmesinde olumlu katkılarının olduğu göstermektedir. Bununla birlikte, elde edilen veriler, prebiyotik ve probiyotik kombinasyonu olan sinbiyotiklerin, muhtemelen bağırsak mikrobiyotasını, bağışıklık tepkisini ve diğer olası mekanizmaları düzenleyerek diyabetin komplikasyonlarını ve şiddetini azaltma potansiyeline sahip olduğunu işaret etmiştir. Bulgularımızın, gelecekteki yapılacak deneysel ve klinik çalışmalarda, sinbiyotik takviyesine verilen tepkilerin anlaşılmasına ve diyabetin patogenezinin yönetimine dair daha etkili tedavilerine ve sonuçların yorumlanmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Sinbiyotiklerin diyabetik bireylerin metabolizması üzerindeki etkilerini ve bu karmaşık ilişkide yer alan ana mekanizmaları daha iyi anlamak, yeni terapötik ilkelerin yolunu açmak ve yeni bakış açıları sağlamak için daha fazla araştırılmaların yapılması önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Misih, S.R., Bloomston, M., 2010, Liver anatomy, *The surgical clinics of north america*, 90(4), 643–653.
- Adawi, D., Ahrné, S., Molin, G., 2001, Effects of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on bacterial translocation and liver injury in an acute liver injury model, *International journal of food microbiology*, 70(3), 213–220.
- Adhikari, P.A., Kim, W.K., 2017, Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity—a review, *Annals of animal science*, 17(4), 949-966.
- Alfa, M.J., Strang, D., Tappia, P.S., Olson, N., DeGagne, P., Bray, D., Murray, B.L., Hiebert, B., 2018, A randomized placebo controlled clinical trial to determine the impact of digestion resistant starch MSPrebiotic® on glucose, insulin, and insulin resistance in elderly and mid-age adults, *Frontiers in medicine*, 4, 260.
- Anggeraini, A.S., Massi, M.N., Hamid, F., Ahmad, A., As'ad, S., Bukhari, A., 2021, Effects of synbiotic supplement on body weight and fasting blood glucose levels in obesity: a randomized placebo-controlled trial, *Annals of medicine and surgery*, 68, 102548.
- Anhê, F.F., Barra, N.G., Schertzer, J.D., 2020, Glucose alters the symbiotic relationships between gut microbiota and host physiology, *American journal of physiology, endocrinology and metabolism*, 318(2), E111–E116.
- Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A.M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Poli, A., Pregliasco, F., Salvini, F., Zuccotti, G.V., 2011, Probiotics and health: an evidence-based review, *Pharmacological research*, 63(5), 366–376.
- Azad, M., Sarker, M., Li, T., Yin, J., 2018, Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview, *BioMed research international*, 9478630.
- Bahmani, F., Tajadadi-Ebrahimi, M., Kolaheidoz, F., Mazouchi, M., Hadaegh, H., Jamal, A. S., Mazroii, N., Asemi, S., Asemi, Z., 2016, The consumption of synbiotic bread containing *Lactobacillus sporogenes* and inulin affects nitric oxide and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes mellitus: randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Journal of the american college of nutrition*, 35(6), 506–513.
- Bakhshimoghaddam, F., Shateri, K., Sina, M., Hashemian, M., Alizadeh, M., 2018, Daily consumption of synbiotic yogurt decreases liver steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled clinical trial, *The journal of nutrition*, 148(8), 1276–1284.
- Balmer, M.L., Slack, E., de Gottardi, A., Lawson, M.A., Hapfelmeier, S., Miele, L., Grieco, A., Van Vlierberghe, H., Fahrner, R., Patuto, N., Bernsmeier, C., Ronchi, F., Wyss, M., Stroka, D., Dickgreber, N., Heim, M.H., McCoy, K.D., Macpherson, A.J., 2014, The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota, *Science translational medicine*, 6(237), 237ra66.

- Banasik J., Copstead-Kirkhorn L., 2012, *Pathophysiology*, Saunders; 5th edition, U.S.A., ISBN-978-1455726509.
- Bischoff, S.C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.D., Serino, M., Tilg, H., Watson, A., Wells, J.M., 2014, Intestinal permeability-a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology*, 14, 189.
- Bogdanos, D.P., Gao, B., Gershwin, M.E., 2013, Liver immunology, *Comprehensive physiology*, 3(2), 567–598.
- Bohan, R., Tianyu, X., Tiantian, Z., Ruonan, F., Hongtao, H., Qiong, W., Chao, S., 2019, Gut microbiota: a potential manipulator for host adipose tissue and energy metabolism. *The journal of nutritional biochemistry*, 64, 206–217.
- Brandl, K., Kumar, V., Eckmann, L., 2017, Gut-liver axis at the frontier of host-microbial interactions, *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 312(5), G413–G419.
- Cani, P.D., 2018, Human gut microbiome: hopes, threats and promises, *Gut*, 67(9), 1716–1725.
- Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A.M., Fava, F., Tuohy, K.M., Chabo, C., Waget, A., Delmée, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrières, J., Tanti, J.F., Gibson, G.R., Casteilla, L., Delzenne, N.M., Alessi, M.C., Burcelin, R., 2007, Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance, *Diabetes*, 56(7), 1761–1772.
- Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M., Burcelin, R., 2008, Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice, *Diabetes*, 57(6), 1470–1481.
- Cani, P.D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., Guiot, Y., Everard, A., Rottier, O., Geurts, L., Naslain, D., Neyrinck, A., Lambert, D.M., Muccioli, G.G., Delzenne, N.M., 2009, Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability, *Gut*, 58(8), 1091–1103.
- Carlson, J.L., Erickson, J.M., Lloyd, B.B., Slavin, J.L., 2018, Health effects and sources of prebiotic dietary fiber, *Current developments in nutrition*, 2(3), nzy005.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., Chen, W., 2014, Antidiabetic effect of *Lactobacillus casei* CCFM0412 on mice with type 2 diabetes induced by a high-fat diet and streptozotocin, *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 30(9), 1061–1068.
- Chen, Y., Li, Z., Yang, M., Shui, J., Yue, R., 2019, Does synbiotic supplementation affect body weight, body mass index, and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with type 2 diabetes? Protocol for a systematic review and meta-analysis, *Medicine (Baltimore)*, 98(49):e18197.

- Cheng, C.P., Tsai, S.W., Chiu, C.P., Pan, T.M., Tsai, T.Y., 2013, The effect of probiotic-fermented soy milk on enhancing the NO-mediated vascular relaxation factors, *Journal of the science of food and agriculture*, 93(5), 1219–1225.
- Chiang, J., 2014, *Liver physiology: metabolism and detoxification*, Pathobiology of human diseases, In: McManus, L.M., Mitchell, R.N. (ed), Elsevier, San Diego, ISBN: 978-0-12-386457-4, 1770–1782.
- Cooke, D.W., Plotnick, L., 2008, Type 1 diabetes mellitus in pediatrics, *Pediatrics in review*, 29(11), 374–385.
- Cox, A.J., Zhang, P., Bowden, D.W., Devereaux, B., Davoren, P.M., Cripps, A.W., West, N.P., 2017, Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes, *diabetes & metabolism*, 43(2), 163–166.
- Cremon, C., Barbaro, M.R., Ventura, M., Barbara, G., 2018, Pre- and probiotic overview, *Current opinion in pharmacology*, 43, 87–92.
- Daliri, E.B.M., Lee, B.H., Oh, D.H., 2019, *Safety of probiotics in health and disease*, The role of functional food security in global health. In: Singh, R.B., Watson, R.R., Takahashi, T. (ed), Chapter 35, Academic Press, ISBN: 978-0-12-813148-0, 603–622.
- Damasceno, D.C., Netto, A.O., Iessi, I.L., Gallego, F.Q., Corvino, S.B., Dallaqua, B., Sinzato, Y.K., Bueno, A., Calderon, I.M., Rudge, M.V., 2014, Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes, *BioMed research international*, 819065.
- Davison, J.M., Wischmeyer, P.E., 2019, Probiotic and synbiotic therapy in the critically ill: state of the art, *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 59, 29–36.
- de Melo Pereira, G.V., de Oliveira Coelho, B., Magalhães Júnior, A.I., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C.R., 2018, How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria, *Biotechnology advances*, 36(8), 2060–2076.
- Dedrick, S., Sundaresh, B., Huang, Q., Brady, C., Yoo, T., Cronin, C., Rudnicki, C., Flood, M., Momeni, B., Ludvigsson, J., Altindis, E., 2020, The role of gut microbiota and environmental factors in type 1 diabetes pathogenesis, *Frontiers in endocrinology*, 11, 78.
- DeGruttola, A.K., Low, D., Mizoguchi, A., Mizoguchi, E., 2016, Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models, *Inflammatory bowel diseases*, 22(5), 1137–1150.
- Dehghan, P., Farhangi, M.A., Tavakoli, F., Aliasgarzadeh, A., Akbari, A.M., 2016, Impact of prebiotic supplementation on T-cell subsets and their related cytokines, anthropometric features and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized placebo-controlled trial, *Complementary therapies in medicine*, 24, 96–102.
- Dehghan, P., Pourghassem Gargari, B., Asghari Jafar-abadi, M., 2014, Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with

- type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled clinical trial, *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 30(4), 418–423.
- Ding, L., Gong, Y., Yang, Z., Zou, B., Liu, X., Zhang, B., Li, J., 2019, *Lactobacillus rhamnosus* GG ameliorates liver injury and hypoxic hepatitis in rat model of CLP-induced sepsis, *Digestive diseases and sciences*, 64(10), 2867–2877.
- Dong, J.Y., Szeto, I.M., Makinen, K., Gao, Q., Wang, J., Qin, L.Q., & Zhao, Y., 2013, Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials, *The British journal of nutrition*, 110(7), 1188–1194.
- Ebrahimi, Z.S., Nasli-Esfahani, E., Nadjarzade, A., Mozaffari-Khosravi, H., 2017, Effect of symbiotic supplementation on glycemic control, lipid profiles and microalbuminuria in patients with non-obese type 2 diabetes: a randomized, double-blind, clinical trial, *Journal of diabetes and metabolic disorders*, 16, 23.
- Ejtahed, H.S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mofid, V., 2012, Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients, *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 28(5), 539–543.
- Everard, A., Lazarevic, V., Derrien, M., Girard, M., Muccioli, G.G., Neyrinck, A.M., Possemiers, S., Van Holle, A., François, P., de Vos, W.M., Delzenne, N.M., Schrenzel, J., Cani, P.D., 2011, Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice, *Diabetes*, 60(11), 2775–2786.
- Gan, Y., Tong, J., Zhou, X., Long, X., Pan, Y., Liu, W., Zhao, X., 2021, Hepatoprotective effect of *Lactobacillus plantarum* HFY09 on ethanol-induced liver injury in mice, *Frontiers in nutrition*, 8, 684588.
- Garcia-Compean, D., Jaquez-Quintana, J.O., Gonzalez-Gonzalez, J.A., Maldonado-Garza, H., 2009, Liver cirrhosis and diabetes: risk factors, Pathophysiology, Clinical implications and management, *World journal of gastroenterology*, 15(3), 280–288.
- George Kerry, R., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., Das, G., 2018, Benefaction of probiotics for human health: a review, *Journal of food and drug analysis*, 26(3), 927–939.
- Ghosh, S.S., Wang, J., Yannie, P.J., Ghosh, S., 2020, Intestinal barrier dysfunction, LPS translocation, and disease development, *Journal of the endocrine society*, 4(2), bvz039.
- Gibson, G.R., McCartney, A.L., Rastall, R.A., 2005, Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections, *The British journal of nutrition*, 93 Suppl 1, S31–S34.
- Goldberg R.B., 2009, Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications, *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 94(9), 3171–3182.

- González-Herrera, S.M., Bermúdez-Quiñones, G., Ochoa-Martínez, L.A., Rutiaga-Quiñones, O.M., Gallegos-Infante, J.A., 2021, Synbiotics: a technological approach in food applications, *Journal of food science and technology*, 58(3), 811–824.
- Grice, E.A., Segre, J.A., 2012, The human microbiome: our second genome, *Annual review of genomics and human genetics*, 13, 151–170.
- Guthrie, R.A., Guthrie, D.W., 2004, Pathophysiology of diabetes mellitus, *Critical care nursing quarterly*, 27(2), 113–125.
- Halkjaer, S.I., Nilas, L., Carlsen, E.M., Cortes, D., Halldórsson, T.I., Olsen, S.F., Pedersen, A.E., Krogfelt, K.A., Petersen, A.M., 2016, Effects of probiotics (Vivomixx®) in obese pregnant women and their newborn: study protocol for a randomized controlled trial, *Trials*, 17(1), 491.
- Hall J.E., Guyton A.C., 2011, *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, Saunders/Elsevier, Philadelphia/U.S.A., ISBNB-978-1-4160-4574-8.
- Han, H., Li, Y., Fang, J., Liu, G., Yin, J., Li, T., Yin, Y., 2018, Gut microbiota and type 1 diabetes, *International journal of molecular sciences*, 19(4), 995.
- Harisa, G.I., Taha, E.I., Khalil, A.F., Salem, M.M., 2009, Oral Administration of *Lactobacillus acidophilus* restores nitric oxide level in diabetic rats, *Australian journal of basic applied sciences*, 3(3), 2963-9.
- He, J., Zhang, F., Han, Y., 2017, Effect of probiotics on lipid profiles and blood pressure in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of RCTs, *Medicine*, 96(51), e9166.
- Healey, G., Murphy, R., Butts, C., Brough, L., Whelan, K., Coad, J., 2018, Habitual dietary fibre intake influences gut microbiota response to an inulin-type fructan prebiotic: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over, human intervention study, *The British journal of nutrition*, 119(2), 176–189.
- Hemarajata, P., Versalovic, J., 2013, Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation, *Therapeutic advances in gastroenterology*, 6(1), 39–51.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E., 2014, Expert consensus document, the international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of The term probiotic, *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506–514.
- Hink, U., Li, H., Mollnau, H., Oelze, M., Matheis, E., Hartmann, M., Skatchkov, M., Thaiss, F., Stahl, R. A., Warnholtz, A., Meinertz, T., Griendling, K., Harrison, D. G., Forstermann, U., Munzel, T., 2001, Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus, *Circulation research*, 88(2), E14–E22.

- Hsieh, F. C., Lee, C. L., Chai, C. Y., Chen, W. T., Lu, Y. C., Wu, C. S., 2013, Oral administration of *Lactobacillus Reuteri* GMNL-263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats, *Nutrition & metabolism*, 10(1), 35.
- Hsieh, P.S., Ho, H.H., Hsieh, S.H., Kuo, Y.W., Tseng, H.Y., Kao, H.F., Wang, J.Y., 2020, *Lactobacillus salivarius* AP-32 and *Lactobacillus reuteri* GL-104 decrease glycemic levels and attenuate diabetes-mediated liver and kidney injury in db/db mice, *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 8(1), e001028.
- Jain, S., Gautam, V., Naseem, S., 2011, Acute-phase proteins: as diagnostic tool, *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 3(1), 118–127.
- Javadi, L., Khoshbaten, M., Safaiyan, A., Ghavami, M., Abbasi, M. M., Gargari, B.P., 2018, Pro- and prebiotic effects on oxidative stress and inflammatory markers in non-alcoholic fatty liver disease, *Asia pacific journal of clinical nutrition*, 27(5), 1031–1039.
- Kadooka, Y., Sato, M., Imaizumi, K., Ogawa, A., Ikuyama, K., Akai, Y., Okano, M., Kagoshima, M., 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.
- Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, Tuma F., *Physiology, Liver*, [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.
- Kanazawa, A., Aida, M., Yoshida, Y., Kaga, H., Katahira, T., Suzuki, L., Tamaki, S., Sato, J., Goto, H., Azuma, K., Shimizu, T., Takahashi, T., Yamashiro, Y., Watada, H., 2021, Effects of synbiotic supplementation on chronic inflammation and the gut microbiota in obese patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled study, *Nutrients*, 13(2), 558.
- Kang, E.J., Kim, S.Y., Hwang, I.H., Ji, Y.J., 2013, The Effect of probiotics on prevention of common cold: a meta-analysis of randomized controlled trial studies, *Korean journal of family medicine*, 34(1), 2–10.
- Kasińska, M.A., Drzewoski, J., 2015, Effectiveness of probiotics in type 2 diabetes: a meta-analysis, *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej*, 125(11), 803–813.
- Kavitha, K., Reddy, A.G., Reddy, K.K., Kumar, C.S., Boobalan, G., Jayakanth, K., 2016, Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of pioglitazone, insulin and synbiotic in diabetic rats, *Veterinary world*, 9(2), 118–122.
- Kazemi A., Soltani S., Ghorabi S., Keshtkar A., Daneshzad E., Nasri F., Mazloomi S.M., 2020, Effect of probiotic and synbiotic supplementation on inflammatory markers in health and disease status: a systematic review and meta-analysis of clinical trials, *Clinical nutrition journal*, 39(3):789-819.
- Khalesi, S., Johnson, D.W., Campbell, K., Williams, S., Fenning, A., Saluja, S., Irwin, C. 2018, Effect of probiotics and synbiotics consumption on serum concentrations of liver function test enzymes: a systematic review and meta-analysis, *European journal of nutrition*, 57(6), 2037–2053.

- Kho, Z.Y., Lal, S.K., 2018, The human gut microbiome - a potential controller of wellness and disease, *Frontiers in microbiology*, 9, 1835.
- Khurshed, R., Singh, S.K., Wadhwa, S., Kapoor, B., Gulati, M., Kumar, R., Ramanunni, A.K., Awasthi, A., Dua, K., 2019, Treatment strategies against diabetes: success so far and challenges ahead, *European journal of pharmacology*, 862, 172625.
- Kim, Y.A., Keogh, J.B., Clifton, P.M., 2018, Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity, *Nutrition research reviews*, 31(1), 35–51.
- Lambertz, J., Weiskirchen, S., Landert, S., Weiskirchen, R., 2017, Fructose: a dietary sugar in crosstalk with microbiota contributing to the development and progression of non-alcoholic liver disease, *Frontiers in immunology*, 8, 1159.
- Li, H., Oehrlein, S.A., Wallerath, T., Ihrig-Biedert, I., Wohlfart, P., Ulshöfer, T., Jessen, T., Herget, T., Förstermann, U., Kleinert, H., 1998, Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene, *Molecular pharmacology*, 53(4), 630–637.
- Liang, M., Wang, J., Xie, C., Yang, Y., Tian, J.W., Xue, Y.M., Hou, F.F., 2014, Increased plasma advanced oxidation protein products is an early marker of endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients without albuminuria 2, *Journal of diabetes*, 6(5), 417–426.
- Liu, F., Prabhakar, M., Ju, J., Long, H., & Zhou, H. W., 2017, Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European journal of clinical nutrition*, 71(1), 9–20.
- Liu, T., Li, J., Liu, Y., Xiao, N., Suo, H., Xie, K., Yang, C., Wu, C., 2012, Short-chain fatty acids suppress lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines through inhibition of NF- κ B pathway in RAW264.7 cells, *Inflammation*, 35(5), 1676–1684.
- Loman, B.R., Hernández-Saavedra, D., An, R., Rector, R.S., 2018, Prebiotic and probiotic treatment of nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis, *Nutrition reviews*, 76(11), 822–839.
- Lü, M., Yu, S., Deng, J., Yan, Q., Yang, C., Xia, G., Zhou, X., 2016, Efficacy of probiotic supplementation therapy for helicobacter pylori eradication: a meta-analysis of randomized controlled trials, *PloS one*, 11(10), e0163743.
- Ma, Y.Y., Li, L., Yu, C.H., Shen, Z., Chen, L.H., Li, Y.M., 2013, Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis, *World journal of gastroenterology*, 19(40), 6911–6918.
- Maciel, F.R., Punaro, G.R., Rodrigues, A.M., Bogsan, C.S., Rogero, M.M., Oliveira, M.N., Mouro, M.G., Higa, E.M., 2016, Immunomodulation and nitric oxide restoration by a probiotic and its activity in gut and peritoneal macrophages in diabetic rats, *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 35(5), 1066–1072.

- Mahboobi, S., Rahimi, F., Jafarnejad, S., 2018, Effects of prebiotic and synbiotic supplementation on glycaemia and lipid profile in type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials, *Advanced pharmaceutical bulletin*, 8(4), 565–574.
- Manaer, T., Yu, L., Nabi, X. H., Dilidaxi, D., Liu, L., Sailike, J., 2021, The beneficial effects of the composite probiotics from camel milk on glucose and lipid metabolism, liver and renal function and gut microbiota in *db/db* mice, *BMC complementary medicine and Therapies*, 21(1), 127.
- Markowiak, P., Ślizewska, K., 2017, Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health, *Nutrients*, 9(9), 1021.
- Milosevic, I., Vujovic, A., Barac, A., Djelic, M., Korac, M., Radovanovic Spurnic, A., Gmizic, I., Stevanovic, O., Djordjevic, V., Lekic, N., Russo, E., Amedei, A., 2019, Gut-liver axis, gut microbiota, and its modulation in the management of liver diseases: a review of the literature, *International journal of molecular sciences*, 20(2), 395.
- Miraghajani, M., Dehsoukhteh, S. S., Rafie, N., Hamedani, S. G., Sabihi, S., Ghiasvand, R., 2017, Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature, *Sao Paulo medical journal*, 135(2), 169–178.
- Mishra, S.P., Wang, S., Nagpal, R., Miller, B., Singh, R., Taraphder, S., Yadav, H., 2019, Probiotics and prebiotics for the amelioration of type 1 diabetes: present and future perspectives, *Microorganisms*, 7(3), 67.
- Mohamed, J., Nazratun Nafizah, A.H., Zariyantey, A.H., Budin, S.B., 2016, Mechanisms of diabetes-induced liver damage: the role of oxidative stress and inflammation, *Sultan Qaboos university medical journal*, 16(2), e132–e141.
- Mohanty, D., Misra, S., Mohapatra, S., Sahu, P.S., 2018, Prebiotics and synbiotics: recent concepts in nutrition, *Food bioscience*, 26, 152–160.
- Moreira, A.P., Texeira, T.F., Ferreira, A.B., Peluzio, M., Alfenas, R., 2012, Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia, *The British journal of nutrition*, 108(5), 801–809.
- Nikbakht, E., Khalesi, S., Singh, I., Williams, L.T., West, N.P., Colson, N., 2018, Effect of probiotics and synbiotics on blood glucose: a systematic review and meta-analysis of controlled trials, *European journal of nutrition*, 57(1), 95–106.
- Notay, M., Foolad, N., Vaughn, A.R., Sivamani, R.K., 2017, Probiotics, prebiotics, and synbiotics for the treatment and prevention of adult dermatological diseases, *American journal of clinical dermatology*, 18(6), 721–732.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical biochemistry*, 95(2), 351–358.
- Opara E.C., Dagogo-Jack S., 2019, *Nutrition and diabetes pathophysiology and management second edition*, Taylor & Francis Group, Miami/ USA, ISBN: 978-1-138-71000-9.

- Pan, H., Li, R., Li, T., Wang, J., Liu, L., 2017, Whether probiotic supplementation benefits rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis, *Engineering*, 3(1), 115-121.
- Pandey, K.R., Naik, S.R., Vakil, B.V., 2015, Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review, *Journal of food science and technology*, 52(12), 7577–7587.
- Parnell, J.A., Reimer, R.A., 2009, Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults, *The american journal of clinical nutrition*, 89(6), 1751–1759.
- Patel, R., DuPont, H.L., 2015, New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics, *Clinical infectious diseases: an official publication of the infectious diseases society of america*, 60 Suppl 2(Suppl 2), S108–S121.
- Patterson, E., Ryan, P.M., Cryan, J.F., Dinan, T.G., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Stanton, C., 2016, Gut microbiota, obesity and diabetes, *Postgraduate medical journal*, 92(1087), 286–300.
- Pavlović, N., Stankov, K., Mikov, M., 2012, Probiotics--interactions with bile acids and impact on cholesterol metabolism, *Applied biochemistry and biotechnology*, 168(7), 1880–1895.
- Petersen, C., Round, J.L., 2014, Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease, *Cellular microbiology*, 16(7), 1024–1033.
- Porth C.M., Grossman S.C., 2014, *Porth's pathophysiology 9th ed.*, Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins, China, ISBN: 978-1-4511-4600-4.
- Priyadarsini, N., Mishra, T., Behera, M., Mohapatra, D., Panda, P., 2015, Role of probiotics in type 2 diabetes mellitus, *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 34(1), 276-280.
- Rewers, M., Hyöty, H., Lernmark, Å., Hagopian, W., She, J. X., Schatz, D., Ziegler, A. G., Toppari, J., Akolkar, B., Krischer, J., 2018, The environmental determinants of diabetes in the young (TEDDY) study: 2018 update, *Current diabetes reports*, 18(12), 136.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G., Gasbarrini, A., Mele, M. C., 2019, What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases, *Microorganisms*, 7(1), 14.
- Rodriguez-Saldana J., 2019, *The Diabetes textbook clinical principles*, Patient management and public health issues, Mexico City/Mexico, ISBN-978-3-030-11814-3.
- Sanchez, M., Darimont, C., Drapeau, V., Emady-Azar, S., Lepage, M., Rezzonico, E., Ngom-Bru, C., Berger, B., Philippe, L., Ammon-Zuffrey, C., Leone, P., Chevrier, G., St-Amand, E., Marette, A., Doré, J., Tremblay, A., 2014, Effect *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women, *The British journal of nutrition*, 111(8), 1507–1519.

- Sharpton, S. R., Maraj, B., Harding-Theobald, E., Vittinghoff, E., Terrault, N. A., 2019, Gut microbiome-targeted therapies in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression, *The American journal of clinical nutrition*, 110(1), 139–149.
- Silbernagl S., Lang F., 2010, *Color atlas of pathophysiology*, Thieme, Stuttgart/Germany, ISBN-978-3-116552-7.
- Tabrizi, R., Moosazadeh, M., Lankarani, K. B., Akbari, M., Heydari, S. T., Kolaheidoz, F., Asemi, Z., 2018, The effects of synbiotic supplementation on glucose metabolism and lipid profiles in patients with diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(2), 329–342.
- Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C.M., Knight, R., Gordon, J.I., 2007, The human microbiome project, *Nature*, 449(7164), 804–810.
- Utzschneider, K.M., Kratz, M., Damman, C.J., Hullar, M., 2016, Mechanisms linking the gut microbiome and glucose metabolism, *The journal of clinical endocrinology and metabolism*, 101(4), 1445–1454.
- Vallianou N.G., Stratigou T., Tsagarakis S., 2018, Microbiome and diabetes: where are we now?, *Diabetes research and clinical practice*, 146, 111–118.
- Vyas, U., Ranganathan, N., 2012, Probiotics, prebiotics, and synbiotics: gut and beyond, *Gastroenterology research and practice*, 872716.
- Wang, Y., Li, Y., Xie, J., Zhang, Y., Wang, J., Sun, X., Zhang, H., 2013, Protective effects of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang against endotoxin- and d-galactosamine-induced liver injury in rats via anti-oxidative and anti-inflammatory capacities, *International immunopharmacology*, 15(1), 30–37.
- Wen, L., Ley, R.E., Volchkov, P.Y., Stranges, P.B., Avanesyan, L., Stonebraker, A.C., Hu, C., Wong, F.S., Szot, G.L., Bluestone, J.A., Gordon, J.I., Chervonsky, A.V., 2008, Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes, *Nature*, 455(7216), 1109–1113.
- Wu, Y., Wang, B., Tang, L., Zhou, Y., Wang, Q., Gong, L., Ni, J., Li, W., 2022, Probiotic bacillus alleviates oxidative stress-induced liver injury by modulating gut-liver axis in a rat model, *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(2), 291.
- Xu, S., Zhao, M., Wang, Q., Xu, Z., Pan, B., Xue, Y., Dai, Z., Wang, S., Xue, Z., Wang, F., Xu, C., 2021, Effectiveness of probiotics and prebiotics against acute liver injury: A meta-analysis, *Frontiers in medicine*, 8, 739337.
- Yadav, H., Jain, S., Sinha, P.R., 2007, Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats, *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 23(1), 62–68.

- Yadav, H., Jain, S., Sinha, P.R., 2008, Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats, *The journal of dairy research*, 75(2), 189–195.
- Yan, F., Li, N., Shi, J., Li, H., Yue, Y., Jiao, W., Wang, N., Song, Y., Huo, G., Li, B., 2019, *Lactobacillus acidophilus* alleviates type 2 diabetes by regulating hepatic glucose, lipid metabolism and gut microbiota in mice, *Food & function*, 10(9), 5804–5815.
- Yang, G., Wei, J., Liu, P., Zhang, Q., Tian, Y., Hou, G., Meng, L., Xin, Y., Jiang, X., 2021, Role of the gut microbiota in type 2 diabetes and related diseases, *Metabolism: clinical and experimental*, 117, 154712.
- Yang, L., Bian, X., Wu, W., Lv, L., Li, Y., Ye, J., Jiang, X., Wang, Q., Shi, D., Fang, D., Wu, J., Wang, K., Wang, Q., Xia, J., Xie, J., Lu, Y., Li, L., 2020, Protective effect of *Lactobacillus salivarius* Li01 on thioacetamide-induced acute liver injury and hyperammonaemia, *Microbial biotechnology*, 13(6), 1860–1876.
- Yun, S. I., Park, H. O., Kang, J. H., 2009, Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on blood glucose levels and body weight in a mouse model of type 2 diabetes. *Journal of applied microbiology*, 107(5), 1681–1686.
- Zarfeshani, A., Khaza'ai, H., Mohd Ali, R., Hambali, Z., Wahle, K. W., Mutalib, M.S., 2011, Effect of *Lactobacillus casei* on the production of pro-inflammatory markers in streptozotocin-induced diabetic rats, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 3(3-4), 168–174.
- Zhang, Q., Yu, H., Xiao, X., Hu, L., Xin, F., Yu, X., 2018, Inulin-type fructan improves diabetic phenotype and gut microbiota profiles in rats, *PeerJ*, 6, e4446.
- Zhang, Y., Li, L., Guo, C., Mu, D., Feng, B., Zuo, X., Li, Y., 2016, Effects of probiotic type, dose and treatment duration on irritable bowel syndrome diagnosed by rome III criteria: a meta-analysis, *BMC gastroenterology*, 16(1), 62.
- Zheng, H. J., Guo, J., Jia, Q., Huang, Y. S., Huang, W. J., Zhang, W., Zhang, F., Liu, W. J., Wang, Y., 2019, The effect of probiotic and synbiotic supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Pharmacological research*, 142, 303–313.
- Zorn, A.M., Wells, J.M., 2009, Vertebrate endoderm development and organ formation, *Annual review of cell and developmental biology*, 25, 221–251.

EKLER

5.1.1. Etik Kurul Karar Metni



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sümeyya Asena Can
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	13.07.2018

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Zooloji Programı

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	

Makale ve Bildiriler	