

Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü

The role of gut microbiota in cardiovascular diseases

Zinnet Şevval AKSOYALP¹, Cahit NACİTARHAN¹

ÖZET

Barsak mikrobiyotası, gastrointestinal sistemde yaşayan organizmaların tamamı olarak tanımlanmaktadır. Barsak mikrobiyotası çok komplekstir ve barsak mikrobiyotasında başlıca bakteri ve arkebakteri olmak üzere virüs, mantar ve birçok ökaryotik mikroorganizma yer almaktadır. Bu organizmaların çoğu kalın barsakta yer almakta ve yaşamın sürdürülmesinde önemli fizyolojik rol oynamaktadır. Barsak mikrobiyotası dinamiktir ve beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı, antibiyotikler ve genetik geçmiş ile düzenlenmektedir. Barsak mikrobiyotası besinlerden çeşitli metabolitlerin üretilmesinde önemli role sahiptir. Mikrobiyota vücuda alınan besinlere göre farklı metabolitler oluşturmaktadır. Bu metabolitlerin bazıları karbon ve enerji kaynağı olarak konak tarafından kullanılmakta ve obezite, iştah ve kolonik inflamasyonun modülasyonu üzerinde faydalı etkiler göstermekte, bazıları ise olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Mikrobiyota ile hastalık risklerinin önceden tespit edilebileceği öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda, barsak mikrobiyotası bileşimi gastrointestinal sistem hastalıkları, obezite, diyabet, kanser ve depresyon, otizm, anksiyete ve Parkinson hastalığı gibi hemen hemen tüm hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Barsak mikrobiyotasının; barsak

ABSTRACT

The gut microbiota is defined as the all of the organism living in the gastrointestinal tract. The gut microbiota is very complex, and contains mainly bacteria and archebacteria, viruses, fungi and many eukaryotic microorganisms. Many of these organisms located in the large intestine and plays an important physiological role in the maintaining of life. Gut microbiota is dynamic and is regulated by dietary habits, lifestyle, antibiotics and genetic background. The gut microbiota has an important role in the production of various metabolites from nutrients. Microbiota produces different metabolites according to the nutrients. Some of these metabolites are used by the host as a source of carbon and energy and have beneficial effects on the modulation of obesity, appetite and colonic inflammation, while others cause adverse effects. It is predicted that disease risks can be estimated with microbiota. Gut microbiota was associated with almost all diseases such as gastrointestinal tract diseases, obesity, diabetes, cancer and depression, autism, anxiety and Parkinson's disease. Intestine-related effects of gut microbiota such as intestine immunity and

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya



İletişim / Corresponding Author : Zinnet Şevval AKSOYALP

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası B-blok Kat: 3 Konyaaltı Antalya - Türkiye
Tel : +90 538 944 03 43 E-posta / E-mail : seval_aksoyalp@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21.07.2017
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.32068

Aksoyalp ZŞ, Nacitarhan C. Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü.
Türk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 213-224

immunitesi ve barsak motilitesinin düzenlenmesi, besinlerin sindirilmesi, enerji üretimi, intestinal bariyerin ve barsak vasküler sistemin düzenlenmesi gibi barsakla ilgili etkileri iyi bilinmektedir fakat ekstra intestinal etkileri hakkındaki kesin bilgiler henüz sınırlıdır. Mikrobiyota ve metabolitlerin pek çok sistem üzerine ekstra intestinal etkileri araştırılırken özellikle kardiyovasküler sistem üzerine etkileri dikkat çekmektedir. Örneğin en sık görülen kardiyovasküler hastalıklardan kalp krizi, inme ve periferel damar hastalıkları gibi çoğunlukla tromboemboliye ikincil gelişen hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü olduğu düşünülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü hakkında en ilginç kanıtlar, kardiyovasküler risk ile ilişkili yeni metabolitlerin ve yolların tanımlanması ve plazma örneklerinin metabolik analizleri sonucu elde edilmesidir. Ancak bu hastalıklarda mikrobiyotanın oluşturduğu etkinin mekanizmaları hala net olarak anlaşılmış değildir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre batı ülkelerinde meydana gelen ölümlerin ana nedenlerinden biri kardiyovasküler hastalıklardır ve her yıl 20 milyon ölüm kardiyovasküler hastalıklardan meydana gelmektedir. Bu kadar fazla ölümün görüldüğü kardiyovasküler hastalıklarda, mikrobiyotanın rolünün gösterilmesi bu tür yaygın hastalıkların tedavisinde güncel tedavi yaklaşımlarından farklı, umut verici, yeni tedavi seçenekleri sağlayabilir. Bu nedenle, kardiyovasküler hastalıklarda terapötik strateji olarak barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi üzerine ilgi giderek artmaktadır. Bu derlemede, barsak mikrobiyotası ile kardiyovasküler hastalıkların ilişkisi üzerine yapılmış son çalışmalara ve bu hastalıkları kontrol etmek için barsak mikrobiyotasını düzenleyecek olası yollara odaklanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: gastrointestinal mikrobiyom, kalp ve damar hastalıkları, ateroskleroz, inflamasyon, probiyotikler, prebiyotikler, kısa zincirli yağ asitleri, kolin

intestinal motility regulation, digestion of nutrients, energy production, intestinal barrier and regulation of the intestinal vascular system are well known, but exact information about extra intestinal effects is still limited. While microbiota and its metabolites are being investigated for extra intestinal effects on many systems, the effects on the cardiovascular system are noteworthy. For example, it is thought that gut microbiota plays a role in diseases that are secondary to thromboembolism such as heart attack, stroke and peripheral vascular diseases. The most interesting evidence about the role of gut microbiota in cardiovascular diseases is the identification of new metabolites and pathways associated with cardiovascular risk and the metabolic analysis of plasma samples. However, the mechanism of action of microbiota in these diseases is still unclear. According to the World Health Organization, cardiovascular diseases are one of the main cause of deaths in Western countries. Every year, 20 million deaths occur in cardiovascular diseases. The demonstration of the role of microbiota in cardiovascular diseases where mortality is high may provide new, promising, and different treatment options than current treatment approaches. Therefore, interest in regulation of gut microbiota as a therapeutic strategy in cardiovascular diseases is increasing. This review focuses on recent studies on the relationship between gut microbiota and cardiovascular disease and possible ways to regulate gut microbiota to control of these diseases.

Key Words: gastrointestinal microbiome, cardiovascular diseases, atherosclerosis, inflammation, probiotics, prebiotics, volatile fatty acids, choline

GİRİŞ

Önceden barsak florası olarak adlandırılmış olan barsak mikrobiyotası; barsağımızda yaşayan mikroorganizma popülasyonu olarak tanımlanmaktadır. Barsak mikrobiyotası çok karmaşıktır ve başlıca bakteri ve arkebakteri olmak üzere virüs, mantar ve birçok ökaryotik mikroorganizmanın yer aldığı 10^{14} 'ten daha fazla organizmayı içermektedir (1). İnsanlar çok çeşitli mikrobiyota bileşimine sahip olmasına rağmen barsak mikrobiyotası ana olarak *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* olmak üzere dört sınıftan meydana gelmektedir (2).

Kalın barsak en fazla sayıda bakteriyi içermektedir (barsak içeriğinin gramı başına 10^{11} 'den fazla bakteri). Ağız 10^{12} , ileum 10^8 - 10^9 bakteri içermektedir. Jejunum 10^5 - 10^6 içerirken mide 10^3 - 10^4 ile en az sayıda bakteriyi içermektedir (3). İnsan sistemindeki tüm bakteriler karakterize edilip, tanımlanamamış olmasına karşın, yeni nesil sekanslama gibi moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler barsak mikrobiyotasının anlaşılmasına büyük katkı sağlamıştır (4).

Anne karnında fetüsün barsağı fizyolojik olarak steril haldedir. Fetüs normal doğum sırasında annenin vajinal mikrobiyotasına maruz kalmakta, sezaryan ile doğumunda ise bebeğin bakteriyel barsak bileşimi annenin deri bakterilerinden oluşmakta ve normal veya sezaryan doğum ile doğan fetüslerin barsak mikrobiyotasında farklılıklara neden olmaktadır (5). Mikroorganizmalar doğum sonrasında hızlı bir şekilde insan barsağında kolonize olmakta ve trilyonlarca sayıda üreyip, konakçının hücre sayısından sayıca üstün hale gelmekte hatta yetişkin bireyin vücudunda kendi hücrelerinden on kat daha fazla bakteri hücresi bulunmaktadır. Yenidoğan barsağında *Proteobacteria* baskındır fakat çocukluktan (yaklaşık %16) yetişkinliğe (yaklaşık %4,6) doğru büyük ölçüde azalmaktadır (6). Bu da insan barsak mikrobiyotası bileşiminin yaş ile değiştiğini göstermektedir.

Beslenme mikroorganizmaların başka bir kaynağıdır. Hazır gıda ile beslenen bebeklere göre anne sütü ile beslenen bebeklerin barsak

mikrobiyotası içeriğinin farklı olduğu görülmüştür (5). Bebeğin barsak mikrobiyotası bileşiminde değişiklik yapan durumlardan bir diğeri de katı gıdaya geçiştir. Katı gıdaya geçiş sonrası yaşlılık dönemine kadar barsak mikrobiyotası göreceli olarak değişmemekte, yaşlılık döneminde ise barsak mikrobiyotası tekrar değişmektedir (7).

Mikrobiyota ile hastalık risklerinin önceden tespit edilebileceği öngörülmektedir. Yapılan son çalışmalarda, barsak mikrobiyotası bileşimi hemen hemen tüm hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Örneğin; gastrointestinal sistem hastalıkları, obezite, diyabet, kanser ve depresyon, otizm, anksiyete ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (8).

Barsak mikrobiyotası; barsakla ilişkili lenfoid dokunun (GALT "gut-associated lymphoid tissue") ve barsak motilitésinin düzenlenmesinde kritik role sahiptir (9). İntestinal bariyer bütünlüğü ve barsak vasküler sistem morfojeninde de rol oynamaktadır. (10). Ayrıca barsak mikrobiyotası; insan genomunda ifadenemeyen enzimler aracılığı ile sindirilemeyen karbonhidratlar ve bitki polisakaridlerinden enerji elde edilmesinde konağa yardımcı olmaktadır (11). Kolon mikrobiyotası sindirilemeyen karbonhidratları fermente etmekte ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) üretimine yol açmaktadır. Kısa zincirli yağ asitleri enerji harcamasını düzenleyen GPR41 (FFAR3) ve GPR43 (FFAR2) gibi G-protein kenetli reseptörlere (GPCR) bağlanmaktadır (12). Bir çalışmada, GPR43'ü eksik fareler düşük yağlı diyet verildiğinde bile obez oldukları, adipoz dokusunda GPR43'ü yüksek düzeyde ifadeleyen farelerin ise yüksek yağlı diyetle beslendiğinde bile zayıf kaldıkları görülmüş ve GPR43'ün KZYA-bağımlı aktivasyonu adipoz dokuda insülin sinyalini düzenlediği ve yağ birikimini engellediği gösterilmiştir (13). Bütirat; enteroendokrin L hücrelerinden glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve peptid YY (PYY) salınımı ile iştahı baskılamaktadır. Glukagon benzeri peptid-1'in artışı

adiposit insülin duyarlılığını arttırmaktadır ve sonuç olarak adipoz dokuda yağ birikimini engellemektedir (14).

Barsak mikrobiyotası, safra asitlerinin bileşimini etkileyerek de konağın metabolik durumunu düzenleyebilmektedir (15). Son olarak barsak mikrobiyotası ve konak ilişkisinin düzenlenmesinde, karaciğerin rolünün aydınlatılması gerekmektedir. Karaciğer vasküler güvenlik duvarı olarak oluşmuştur ve barsaktaki kommensal bakterilerin kan akımına girmesine engel olmaktadır. Farelerde karaciğer hasarı sonucu kommensal bakterilerin kandan uzaklaştırılma fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir ve spontan sistemik immun cevap sonucu hastalıkların aktivitesi ve diğer patolojik durumlar artabilmektedir (16).

Barsak Mikrobiyotası İçeriğini Etkileyen Faktörler

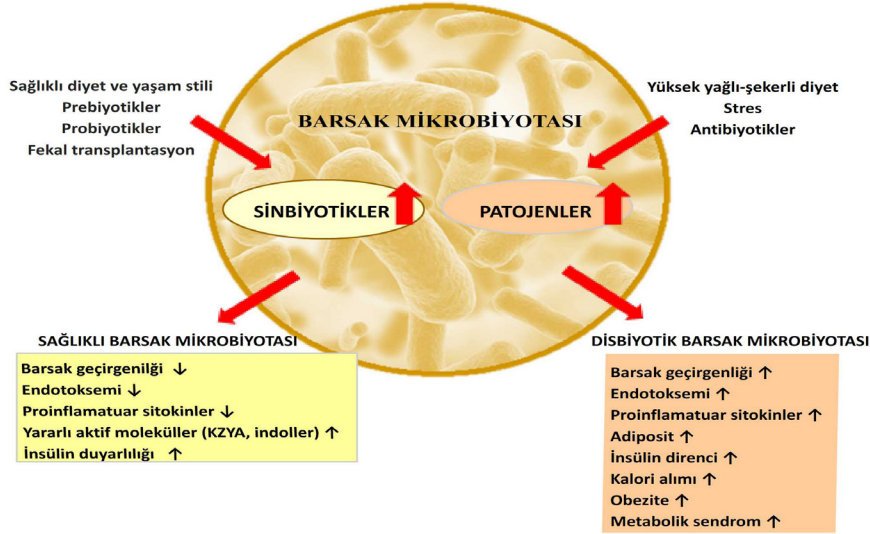
Barsak mikrobiyotası dinamikdir ve diyet, yaşam tarzı, antibiyotikler ve genetik geçmiş ile düzenlenmektedir. Thuny ve ark. (17), tarafından intravenöz olarak vankomisin ve gentamisin uygulamasının kilo alımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Antibiyotik ve kilo alımı ilişkisi bebeklerde de gösterilmiştir. Saari ve ark. (18), ilk altı ay boyunca antibiyotik maruziyetinin sağlıklı çocukta kilo alımı ile ilişkilendirmiştir. Birçok çalışmada, antibiyotik kullanımının bakteriyel çeşitlikte azalmaya neden olabileceği ve stereotipik azalmalarla birlikte belli taksonların varlığında ise artış olabileceği gösterilmiştir. Antibiyotik tedavisinden sonra normal mikrobiyota dengesinin tekrar sağlanması antibiyotiklerin tipine ve spektrumuna bağlıdır (19). Güçlü ve geniş spektrumlu antibiyotiklerden biri olan klindamisin dört yıldan fazla süre barsak mikrobiyotasına etki edebileceğine dair bazı çalışmalar vardır (20). Antibiyotik tedavisi sonrası bozulmuş mikrobiyotanın; antibiyotik dirençli genlerin hastalık oluşturan türe transferini kolaylaştırdığı ve böylece ilaç direncinin arttırdığı öne sürülmektedir (19).

Barsak mikrobiyotası çeşitliliğine ana katkıyı

sağlayan besinlerdir. Diyetteki değişiklikler mikrobiyotadaki varyasyonların %57'sinden; konağın genetik varyasyonlarının ise sadece %12'sinden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (21). Mikrobiyota bileşimi üzerine diyetin etkisi, anne sütü ve hazır mamalarla beslenme ile belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir. Örneğin hazır mamalar ile beslenen bebeklere göre anne sütü ile beslenen bebeklerde *Bifidobacterium* spp. sayısı daha yüksek bulunmuştur (22).

Probiyotikler ve prebiyotikler barsak mikrobiyotasının metabolik aktivitesini ve bileşimini kontrol ettiği kabul edilen besin takviyeleridir. Probiyotikler, konak sağlığı için gıda bileşeni olarak kullanılan patojen olmayan mikroorganizmalardır. Jones ve ark. (23), tarafından hiperkolesterolemili bireylerde *Lactobacillus reuteri* türünün etkisini araştırmışlar ve bu türün önemli bir şekilde LDL-kolesterolü azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca nükleer reseptör farnesoid X reseptörünün (FXR) barsaktan yağ absorpsiyonunun azaltıcı bir faktör olarak rol oynadığı da öne sürülmüştür. Fermente edilmiş besin lifleri olan prebiyotiklerin barsaktaki bakterilerin aktivitesi ve bileşiminde değişiklikleri uyararak konağı etkilediği ve böylece konak sağlığını düzelttiği gösterilmiştir. Barsak mikrobiyotası bileşimini insan sağlığının yararına düzenlemek için gıda endüstrisinin en çok kullandığı prebiyotikler laktuloz, dirençli nişasta ve inülidir. Bunların çoğunlukla *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* cinsi bakterileri hedeflediği gösterilmiştir (24). Sinbiyotikler olarak adlandırılan prebiyotik ve probiyotiklerin kombinasyonunun obeziteye karşı faydalı olabileceği de gösterilmiştir (25) (Şekil 1).

Birçok çalışmada, farklı diyetlerin barsak mikrobiyotası üzerine etkileri gösterilmiştir (26). Diyetin mikrobiyotaya etkisini incelemek için Turnbaugh ve ark. (27) insan feçesini germ-free (GF, mikropsuz) fareye transplante ederek insan barsak mikrobiyotasını içeren farelerde çalışmayı yürütmüştür. Farenin düşük yağlı-bitki polisakkaridi



Şekil 1. Sağlıklı ve disbiyotik barsak mikrobiyotasının konak sağlığı üzerine etkileri

Sağlıklı barsak mikrobiyotasında sinbiyotik bakteriler ve patojen bakteriler denge halinde bulunmaktadır. Yüksek yağlı-şekerli diyet, stres ve antibiyotikler gibi çevresel faktörlerin etkisi ile sinbiyotik bakterilerin azalması ve/veya patojen bakterilerin artması sonucu disbiyotik barsak mikrobiyotası oluşmaktadır. Disbiyotik barsak mikrobiyotası; yağ birikimi, inflamasyon, insülin direnci, obezite ve metabolik sendromda artış ile ilişkilendirilmiştir.

ile zengin diyetinin yüksek yağlı ve şekerli diyet (Western/batı tipi diyet) ile değiştirilmesi tek gün içinde mikrobiyota bileşiminin değişmesine yol açmıştır. Batı tipi diyet ile beslenen farelerde, *Firmicutes* kolunun *Erysipelotrichi* sınıfı bakteri sayısının arttığı, *Bacteroides* spp. sayısının ise azaldığı saptanmıştır. Şehirde yaşayan İtalyan çocukların barsak mikrobiyotası kırsal kesimde yaşayan Afrikalı çocukların barsak mikrobiyotası ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Bacteroides* yoğunluğu daha düşük ve *Enterobacteriaceae* yoğunluğu ise daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar İtalyan çocuklarının polisakkarit içeren bitkileri düşük oranda tüketimi ile ilişkilendirilmiştir (28). Fiziksel egzersizin barsak mikrobiyotasını düzenleyebileceği ve fiziksel aktivitenin mikrobiyotadaki faydalı türlerin sayısını arttırabileceği de başka bir çalışmada gösterilmiştir (29).

Barsak Mikrobiyotası ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Mikrobiyota-ilişkili doğal bağışıklık sistemi aktivasyonunun kardiyovasküler hastalıkların (KVH) gelişimine katkıda bulunduğu dair kanıtlar giderek artmaktadır. İngiliz multi etnik çalışması olan Wandsworth kalp ve inme çalışmasında, siyahi Afrikalılara göre beyaz ırk ve güney Asyalılarda lipopolisakkarit (LPS) seviyesinde artış tanımlanmıştır. Bu artış, etnik farklılıklarla ilişkili KVH risk faktörleri açısından tutarlı bulunmuştur. Artmış endotoksin seviyesi ile anormal metabolik sendrom prevalansı arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (30).

Epidemiyolojik çalışmalarda da enfeksiyon ve KVH arasında ilişki olduğu öne sürülmüştür ve dişeti hastalıklarının yüksek KVH riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (31). Hayvan modellerinde ve insanlarda intestinal mikrobiyotanın KVH ile ilişkili olduğuna dair güçlü kanıtlar gösterilmiştir

(32). Aterosklerozlu 15 hastanın ağız, barsak ve aterosklerotik plak mikrobiyotası analiz edilmiş ve fekal örnekler ve aterosklerotik plak arasında birçok operasyonel taksonomik birim (OTUs) raporlanmış ve plak ilişkili mikrobiyotanın kısmi olarak barsaktan köken aldığı öne sürülmüştür. Ek olarak, aterosklerotik plağa sahip konağın mikrobiyotasında *Proteobacteri*'nin baskın olduğu kontrol grubunda ise *Roseburia* ve *Eubacterium* türlerinin arttığı gösterilmiştir (33).

Aterosklerozlu hastalarda, antibiyotik tedavisi ile ilgili klinik çalışmaların meta analizi ise antibiyotik tedavisinin kardiyovasküler mortalite üzerine faydalı etkilerini göstermede başarısız olmuştur (34). Günümüzde azitromisin ile yapılmış prospektif randomize bir çalışma koroner hastalıkların sekonder koruması için yürütülmüştür ancak KVH oranını azaltmada başarısız bulunmuştur (35).

Kardiyovasküler hastalıklarda, barsak mikrobiyotasının rolü hakkında en ilginç kanıtlar insanlarda kardiyovasküler risk ile ilişkili yeni metabolitlerin ve yolların tanımlanması ve plazma örneklerinin metabolik analizleri sonucu elde edilmesidir. Son çalışmalar, barsak mikrobiyotasının; insülin direnci ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında rolü olduğunu göstermiştir ve bu iki yaygın durumda da KVH prevalansı yüksektir (36). Wang ve ark. (37), hayvan modellerinde barsak mikrobiyotasıyla ilgili olan fosfatidilkolin-kolin metabolik yolağının aterogenezde potansiyel rolünü açıklamıştır. Trimetilamin-N-oksit (TMAO); bir kolin metabolitidir ve ana kaynağı yumurta, karaciğer, sığır ve domuz etidir. Lipid metabolizmasında ve hücre membranının yapısında yer almaktadır. Farelere, kolin ve TMAO diyet desteği verildiğinde ateroskleroz ile ilişkili multipl makrofaj süpürücü reseptörlerin sayısının arttığı görülmüştür.

Kemirgen model çalışmaları TMAO üretiminde, artmış makrofaj kolesterol birikiminde ve köpük hücre formasyonunda diyetle alınan kolin ve barsak mikrobiyotasının kritik rolünü

doğrulamıştır. Ateroskleroza yatkın farelerde barsak mikrobiyotasının baskılanması; diyetle alınan kolinin arttırdığı ateroskleroza inhibe etmiştir. Bu verilere dayanarak artmış plazma TMAO seviyesinin; artmış KVH riskini erken öngörebilmede potansiyel rolünün olduğu ileri sürülmüştür (37).

Kardiyovasküler hastalık geçmişi ve artmış açlık plazma TMAO seviyesi arasındaki ilişkiyi araştırmak için iki prospektif klinik çalışma yürütülmüştür. İlk çalışmada, bir önceki ay içinde antibiyotik veya probiyotik almamış sağlıklı gönüllülerde diyetle fosfatidilkolin uygulanmıştır. Daha sonra bir hafta antibiyotik (günde 2x500 mg metronidazol ve 1x500 mg siprofloksasin) tedavisinden hemen sonra ve antibiyotik tedavisinden bir ay/daha fazla süre geçtikten sonra sonra diyet tekrarlanmıştır. İlk olarak diyetle fosfatidilkolin verildikten sonra plazmada TMAO tespit edilmiştir. Ancak barsak mikrobiyotasının baskılanması bu etkileri ortadan kaldırmıştır. Antibakteriyel tedavinin tamamlanmasından bir ay sonra barsak mikrobiyotası yeniden oluşmuş ve fosfatidilkolin diyeti sonucu TMAO ve döteryum ile işaretlenmiş TMAO tespit edilmiştir. Wang ve ark. (37) tarafından yapılmış çalışmada, insanlarda oral fosfatidilkolin alımı ile barsak mikrobiyotasında TMAO üretimi ilişkilendirilmiştir. Ayrıca açlık plazma TMAO seviyesi uzun dönemde ölüm, MI veya inme gibi major advers kardiyovasküler olay (major adverse cardiovascular events: MACE) riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada, yükselmiş plazma TMAO konsantrasyonu ile MACE riski tahmin edilebilmiştir. Yüksek TMAO seviyesine sahip hastalarda, MACE riski iki kat artmıştır. Böylece bu çalışmalarda, diyetle alınan fosfatidilkolinden ve barsak mikrobiyotasından üretilen TMAO'nun aterojenik öncülü bir madde olduğu gösterilmiştir. Başka çalışmalarda da kalp yetmezliği olan hastalarda, TMAO ile KVH riskinin tahmin edildiği gösterilmiştir (38). Diyetle alınan fosfatidilkolinin barsak mikrobiyotasına bağlı metabolizması ile KVH arasındaki ilişki; aterosklerotik kalp hastalığı patogenezi için yeni tanısal testler ve tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine fırsat

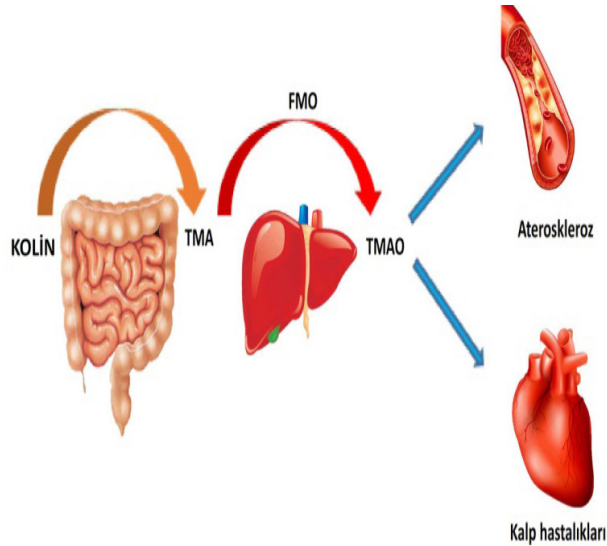
sağlamaktadır.

Tang ve ark. (39), tarafından elde edilmiş bulgularda da aterosjenik öncülü olan TMAO üretiminde barsak mikrobiyotasının rolü tanımlanmıştır. Özellikle diyetle alınan kolin ve L-karnitin barsak mikrobiyotası tarafından trimetilamine (TMA) metabolize edilmektedir. Trimetilamine daha sonra karaciğerde hepatik flavin monooksijenaz 3 (FMO3) ile TMAO'ya dönüştürülmektedir (Şekil 2). İlgili çekici bir şekilde kolinin veya TMAO'nun diyet desteği ters kolesterol transportunu (kolesterolün karaciğere alımını) azaltmaktadır ve farede ateroskleroza neden olan köpük hücrelerin dönüşümünü arttırmaktadır. Ateroskleroza eğilimli apolipoprotein E'den yoksun olan fareye yüksek TMAO üreten çekal mikrobiyotanın transferi sonucu aterogenezin şiddetlendiği görülmüştür. Ayrıca insanda da yükselmiş plazma TMAO seviyesi artması kardiyovasküler olay riski ile ilişkilendirilmiştir (40).

Obezite, insülin direnci, hiperglisemi, hiperlipidemi ve hipertansiyon toplu olarak metabolik sendrom olarak tanımlanmakta ve bu durum KVH

için önemli bir risk faktörüdür. Toll-like 5 reseptörü barsak mikrobiyotasının dengesi için gerekli olan bir reseptördür ve Toll-like reseptöründen yoksun olan farelerin (TLR5-KO) mikrobiyota bağımlı-metabolik sendroma yatkın olduğu görülmüştür. Böylece metabolik hastalıkların patogeneğinde barsak mikrobiyotası-karaciğer aksının rolü olabileceği öne sürülmüştür (41).

Barsak mikrobiyotasının insan sağlığına yararlı etkileri olan son ürünleri de bulunmaktadır. Örneğin; barsak bakterileri tarafından üretilen KZYA (asetat, bütirat, propiyonat) karbon ve enerji kaynağı olarak konak tarafından kullanılmaktadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin obezite, iştah ve kolonik inflamasyonun modülasyonu üzerindeki faydalı etkileri çok sayıda çalışmada belirtilmiştir (42, 43). Bunun yanı sıra artmış fekal KZYA; insanlarda metabolik sendrom ile pozitif olarak ilişkili bulunmuş ve TLR5-KO farelerde disbiyotik mikrobiyota tarafından KZYA'nın kontrolsüz üretiminin metabolik sendroma katkısı olduğu gösterilmiştir (41). Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada, yüksek yağlı diyet ile beslenen



Şekil 1. Diyetle alınan kolinin metabolizması ve kardiyovasküler hastalık (KVH) ilişkisi
Diyetle alınan kolin barsak mikrobiyotası tarafından trimetilamine (TMA) metabolize edilmektedir. Trimetilamine daha sonra karaciğerde hepatik flavin monooksijenaz 3 (FMO3) ile trimetilamin-N-okside (TMAO) dönüşmektedir. Trimetilamin-N-oksidin aterosjenik bir öncül olduğu ve KVH'a neden olabileceği öne sürülmektedir.

sıçanlarda obezite ile propiyonat/asetat üreten *Phascolarctobacterium*, *Proteus mirabilis* ve *Veillonellaceae*'nin miktarının pozitif korele olduğu gösterilmiştir (44).

Kardiyovasküler komplikasyonların en yaygın sebeplerinden biri aterosklerozdur. Koren ve ark. (32), insan aterosklerotik plaklardaki bakteriyel DNA'nın miktarının plaktaki mevcut lökositler ile korele olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca yükselmiş plazma kolesterolünün oral kavite ve barsaktaki bazı bakterilerin oranı ile korele olduğu bulunmuştur.

Kalp yetmezliği (KY) sonucu, barsakta meydana gelen konjesyonun barsak bariyerini değiştirdiği ve bu durumun da değişmiş barsak mikrobiyotası ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bozulmuş barsak bariyer fonksiyonu nedeniyle barsak bakterilerin translokasyonu ve endotoksin benzeri bileşiklerin salınımı artmaktadır ve bunlar dolaşımda yüksek miktarda tespit edilmektedir. Bu duruma, inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres de artış eşlik etmektedir. Öte yandan barsak mikrobiyal metabolizmasının değişmesi sonucu meydana gelen barsak geçirgenliği, inflamasyon ve yağ birikimindeki artış metabolik bozukluklara neden olmakta ve konağın tüm metabolik sürecini etkilemektedir. Spesifik mikrobiyal kolinden trimetilamin-liyazlar aracılığı ile TMAO üretiminde barsak mikrobiyotasının zorunlu olduğu keşfedilmiştir (39). Yeni bir çalışmada, aynı cinsiyet ve aynı yaşta KY olmayan hastalar ile karşılaştırıldığında, KY olan hastalarda TMAO'nun anlamlı olarak daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Yükselmiş plazma TMAO seviyesinin uzun-dönem sağkalımı kısalttığı da öne sürülmüştür (38). Kalp yetmezliği, hayvan modeli çalışmalarında da artmış diyet kolini veya TMAO alımı ile dolaşımdaki TMAO seviyeleri ve miyokard fibrözisi, fonksiyonel bozukluğu ve pulmoner ödeme neden olacak şekilde kalbin yeniden şekillenmesi durumu yani advers ventriküler remodeling (AVR) arasında direkt mekanistik ilişki olduğu gösterilmiştir (45).

Suzuki ve ark. (46) tarafından yapılmış bir kohort çalışmasında, akut dekompanze KY ile başvuran

hastaların 24 saat içinde TMAO seviyeleri tespit edilmiştir. İlerlemiş klinik profilli ve hastanede ölüm riski, tüm nedenlerden kaynaklı ölüm ve bir yılda toplam ölüm/KY oranı yüksek olan hastalarda TMAO seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Konjesyonun (artmış juguler venöz gerilim, nefes darlığı, pulmoner ödem) intestinal bariyeri değiştirdiği ve bakteriyel translokasyonu potansiyel olarak kolaylaştırdığı gösterilmiştir (47). Ama AVR ve KY progresyonu üzerine potansiyel etkisine olan görüş sınırlıdır. Konjesyonun artmış TMAO seviyeleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu bulguların KY'de TMAO seviyelerinin artışının nedeninin anlaşılması ile KY progresyonunda barsak mikrobiyotasının katkısı hakkında önemli görüş sağlayacağı düşünülmektedir (48).

Kardiyovasküler Hastalıkların Profilaksisinde ve Tedavisinde Barsak Mikrobiyotasının Önemi

Trimetilamin-N-oksit seviyesi ile advers prognostik sonuçların tahmin edebilmesi sayesinde, TMAO'nun KY gelişimi ve AVR'de potansiyel rolü olduğu öne sürülmüştür. Bununla uyumlu olarak hayvan modeli çalışmalarında, yüksek TMAO'nun (diyet kolini veya direkt TMAO) anlamlı bir şekilde AVR'yi arttırdığı görülmektedir. Böylece Suzuki ve ark. (46) sonuçları diğer çalışmalar ile birlikte TMAO seviyesini azaltan stratejilerin terapötik fayda sağlayabileceğini öne sürmektedir.

Öldürücü olmayan mikrobiyal enzim inhibitörü olan 3,3-dimetil-1-bütanol (DMB)'ün kolinden mikrobiyal TMA oluşumunu inhibe ettiği ve böylece TMAO üretiminin inhibisyonunun diyetle indüklenen ateroskleroza azalttığı gösterilmiştir (49). Trimetilamin-N-oksit içeren besinlerin miktarını azaltılarak diyet proteinlerinin modüle edilmesi gibi TMAO'yu azaltıcı alternatif stratejiler düşünülmektedir (48).

Karnitinin aza-analogu; diyetle alınan kuarterner aminlerin mikrobiyal degradasyon profilini değiştirerek aterojenik öncülü olan TMAO'nun üretimini baskılamaktadır. Trimetilamin-N-oksit

üretimini azaltmak için bu analoglardan (örneğin; meldonium) fayda sağlanabileceği ileri sürülmektedir (50). Ayrıca *Archaea* türleri barsakta TMA'yı inert moleküllere dönüştürmektedir, bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde *Methanomassiliococcus luminyensis* B10 uygulanabileceği düşünülmektedir (51).

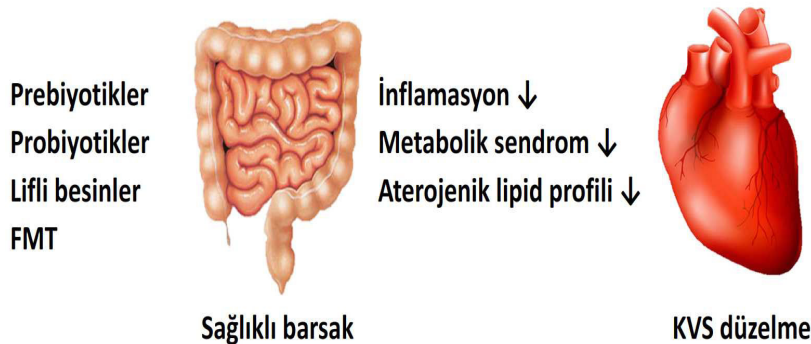
Barsak mikrobiyotası içeriğindeki terapötik değişimler, konağın sağlığını düzeltmesine rağmen barsak ortamı içindeki ani değişiklikler (antibiyotik alımı vs.) yarardan çok zarar verebilmektedir. Özellikle bebekte ilk altı ay boyunca antibiyotik kullanımı çocukluk obezitesi ile ilişkilendirilmiştir (52). Benzer sonuçlar farelerde de gözlemlenmiştir. Tedavi edici dozun altındaki (subterapötik) dozda verilen antibiyotik genç farelerde adipositeyi arttırmıştır (18). Normal koşullarda beslenmiş ApoE-KO fareler ile karşılaştırıldığında, standart düşük kolesterol ile ve GF koşullarda beslenmiş ApoE-KO farelerde ciddi ateroskleroz gelişmiştir. Bu durumda, mikrobiyota ve onun metabolitlerinin KVH'ya karşı koruyucu etkileri olduğunu desteklemektedir (53).

Tüm bu gözlemler ile terapötik girişim yapılırken sadece hastalık nedeni olan bakterilere odaklanılmamasını, aynı zamanda sağlığın sürdürülmesinde yararlı olan bakterilerin de

korunması gerektiği öne sürülmüştür. Kardiyovasküler hastalıkları azaltmak için yararlanılabilecek terapötik yaklaşımlar prebiyotik-probiyotik desteği ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) şeklinde olabilir (Şekil 3) (54).

Mikrobiyota İlişkili Tedavilerin Sınırlamaları

Kişiselleştirilmiş tüm tedaviler için sınırlamalar vardır. Genetik, spesifik diyet, ilaç alımı ve endojen mikrobiyota-mikrobiyota ilişkili tedavileri büyük oranda etkilemektedir. Bazı girişimler, bireysel hastalıklarla mücadelede etkisiz olurken aynı zamanda ek risk faktörlerine neden olabilmektedir. Belirli yenilikçi bakteriyel tedavi uygulamalarının ciddi hastalıklar ile savaşmada büyük potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin, FMT; *Clostridium difficile* enfeksiyonunun tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bazı etkileri risk oluşturmaktadır. Alang ve Kelly (55) tarafından yayınlanmış bir olgu-kontrol çalışmasında, aşırı kilolu donörden FMT sonrasında alıcıda artmış kilo alımı raporlanmıştır. Fekal mikrobiyota transplantasyonu gibi mikrobiyota-araçlı tedavilerde güvenlik risklerini azaltmak ve konağın sağlığını korumak için önemli düzenlemeler gerekmektedir.



Şekil 3. Kardiyovasküler sistem (KVS) sağlığı için barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi
Prebiyotik, probiyotik ve lifli besinlerin tüketilmesi ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) sonucu barsak mikrobiyotasında yararlı bakterilerin artırılarak inflamasyon, aterojenik lipid oluşumu gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin azaltılabileceği ileri sürülmektedir.

SONUÇ

Son yıllarda, barsak mikrobiyotası etkileyici yeni bir organ olarak tanımlanmıştır. Birçok intestinal ve ekstra-intestinal hastalıkla ilişkili olduğu keşfedilmiştir. Yeni sekanslama teknolojilerin gelişimi ile mikrobiyota bileşiminin tespiti ve barsak mikrobiyotası ve konak arasındaki etkileşimde potansiyel gen sayısının keşfedilmesini sağlanmıştır. Son verilerde obezite, diyabet ve aterosklerozda barsak mikrobiyotasının açıkça rolü olduğu gösterilmiştir. Barsak mikrobiyotasının; kardiyometabolik hastalık yolağını düzenlemede anahtar kapı olabileceği düşünülmektedir. Enerji homeostazi ve inflamasyon gibi yolakları etkileyen metabolik hastalıklarda da barsak mikrobiyotasının rol oynadığını gösteren önemli kanıtlar mevcuttur.

İnsan ve hayvanlarda yapılan metabolik çalışmalar ve prospektif gözlemsel ile girişimsel çalışmaların tamamlanmasıyla yakın zamanda barsak

mikrobiyotasının rolü ve mikrobiyal yolaklar daha fazla tanımlanabilecektir. Bilimin bu yöndeki ilerleyişi yeni başlamış ve elde edilen birçok verinin hala tartışmalı olmasına karşın barsak mikrobiyotasının metabolik fonksiyonunun araştırılması umut vaat eden bilgiler sunmaktadır; barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi KVH engellemek ve tedavi etmek için yeni bir hedef olarak görülmektedir. İnsan fizyolojisi ve hastalıkların anlaşılması için barsak mikrobiyotası bileşimi ve fonksiyonun keşfi henüz bir başlangıçtır; çeşitli prebiyotik ve probiyotiklerin klinik çalışmalarının yapılması ile gelecekte metabolik hastalıkların tedavisinde prebiyotik ve probiyotiklerden yarar sağlanabilecektir.

Fakat farklı insan popülasyonları arasındaki farklılıklar genelleştirilmiş terapötik yaklaşımların insanlarda işe yaramayacağını göstermektedir. Bu bağlamda, gelecekte barsak mikrobiyotasını hedef alan kişiselleştirilmiş tedaviler tasarlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Miele L, Giorgio V, Alberelli MA, De Candia E, Gasbarrini A, Grieco A. Impact of gut microbiota on obesity, diabetes, and cardiovascular disease risk. *Curr Cardiol Rep*, 2015; 17(12): 120.
2. Baothman OA, Zanzami MA, Taher I, Abubaker J, Abu-FarhaM. The role of gut microbiota in the development of obesity and diabetes. *Lipids Health Dis*, 2016; 15: 108.
3. Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol*, 2011; 8(2):110-20.
4. Ji B, Nielsen J. From next-generation sequencing to systematic modeling of the gut microbiome. *Front Genet*, 2015; 6: 219.
5. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One*, 2013; 8(11): e78331.
6. Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol*, 2015; 33(9): 496-503.
7. Munyaka PM, Khafipour E, Ghia JE. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. *Front Pediatr*, 2014; 2: 109.
8. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J*, 2016; 92(1087): 286-300.

9. Pacheco AR, Sperandio V. Enteric pathogens exploit the microbiota-generated nutritional environment of the gut. *Microbiol Spectr*, 2015; 3(3): doi: 10.1128/microbiolspec.MBP-0001-2014.
10. Marietta E, Rishi A, Taneja V. Immunogenetic control of the intestinal microbiota. *Immunology*, 2015; 145(3): 313-22.
11. Zhang M, Chekan JR, Dodd D, Hong PY, Radlinski L, Revindran V, et al. Xylan utilization in human gut commensal bacteria is orchestrated by unique modular organization of polysaccharide degrading enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014; 111(35): E3708-17.
12. Kim MH, Kang SG, Park JH, Yanagisawa M, Kim CH. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, 2013; 145(2): 396-406 e1-10.
13. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*, 2013; 4: 1829.
14. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and hostmetabolic regulation. *Nutrients*, 2015; 7(4): 2839-49.
15. Li T, Chiang JY. Bile acids as metabolic regulators. *Curr Opin Gastroenterol*, 2015. 31(2): 159-65.
16. Balmer ML, Slack E, de Gottardi A, Lawson MA, Hapfelmeier S, Miele L, et al. The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci Transl Med*, 2014; 6(237): 237ra66.
17. Thuny F, Richet H, Casalta JP, Angelakis E, Habib G, Raoult D. Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity. *PLoS One*, 2010; 5(2): e9074.
18. Saari A, Virta LJ, Sankilampi U, Dunkel L, Saxen H. Antibiotic exposure in infancy and risk of being overweight in the first 24 months of life. *Pediatrics*, 2015; 135(4): 617-26.
19. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Invest*, 2014; 124(10): 4212-8.
20. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One*, 2010; 5(3): e9836.
21. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 2012; 4(8): 1095-119.
22. Pozo-Rubio T, Mujico JR, Marcos A, Puertollano E, Nadal I, Sanz Y, et al. Immunostimulatory effect of faecal Bifidobacterium species of breast-fed and formula-fed infants in a peripheral blood mononuclear cell/Caco-2 co-culture system. *Br J Nutr*, 2011; 106(8): 1216-23.
23. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 2012; 66(11): 1234-41.
24. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*, 2004; 17(2): 259-75.
25. Rabiei S, Shakerhosseini R, Saadat N. The effects of symbiotic therapy on anthropometric measures, body composition and blood pressure in patient with metabolic syndrome: a triple blind RCT. *Med J Islam Repub Iran*, 2015; 29: 213.
26. Wu GD, Bushman FD, Lewis JD. Diet, the human gut microbiota, and IBD. *Anaerobe*, 2013; 24: 117-20.
27. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med*, 2009; 1(6): p. 6ra14.
28. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010; 107 (33): 14691-6.
29. Mika A, Van Treuren W, González A, Herrera JJ, Knight R, Fleshner M. Exercise is more effective at altering gut microbial composition and producing stable changes in lean mass in juvenile versus adult male F344 rats. *PLoS One*, 2015; 10(5): e0125889.
30. Miller MA, McTernan PG, Harte AL, Silva NF, Strazzullo P, Alberti KG, et al. Ethnic and sex differences in circulating endotoxin levels: A novel marker of atherosclerotic and cardiovascular risk in a British multi-ethnic population. *Atherosclerosis*, 2009; 203(2): 494-502.
31. Woźakowska-Kapłon B, Włosowicz M, Gorczyca-Michta I, Górska R. Oral health status and the occurrence and clinical course of myocardial infarction in hospital phase: a casecontrol study. *Cardiol J*, 2013; 20(4): 370-7.

32. Koren O, Spor A, Felin J, Fåk F, Stombaugh J, Tremaroli V, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011; 108 (Suppl 1): 4592-8.
33. Karlsson FH, Fåk F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun*, 2012; 3: 1245.
34. Andraws R, Berger JS, Brown DL. Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*, 2005; 293(21): 2641-7.
35. Grayston JT, Kronmal RA, Jackson LA, Parisi AF, Muhlestein JB, Cohen JD, et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary events. *N Engl J Med*, 2005; 352(16): 1637-45.
36. Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006; 103(33): 12511-6.
37. Wang Z, Tang WH, Buffa JA, Fu X, Britt EB, Koeth RA, et al. Prognostic value of choline and betaine depends on intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide. *Eur Heart J*, 2014; 35(14): 904-10.
38. Tang WH, Wang Z, Fan Y, Levison B, Hazen JE, Donahue LM, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol*, 2014; 64(18): 1908-14.
39. Tang WH, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2013; 368(17): 1575-84.
40. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 2013; 19(5): 576-85.
41. Singh V, Chassaing B, Zhang L, San Yeoh B, Xiao X, Kumar M, et al. Microbiota-Dependent Hepatic Lipogenesis Mediated by Stearoyl CoA Desaturase 1 (SCD1) Promotes Metabolic Syndrome in TLR5-Deficient Mice. *Cell Metab*, 2015; 22(6): 983-96.
42. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a ppargamma-dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes*, 2015; 64(7): 2398-408.
43. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun*, 2014; 5: 3611.
44. Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, Raipuria M, Huinao KD, Mitchell HM, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PLoS One*, 2015; 10(5): e0126931.
45. Organ CL, Otsuka H, Bhushan S, Wang Z, Bradley J, Trivedi R, et al. Choline diet and its gut microbe-derived metabolite, trimethylamine n-oxide, exacerbate pressure overload-induced heart failure. *Circ Heart Fail*, 2016; 9(1): e002314.
46. Suzuki T, Heaney LM, Bhandari SS, Jones DJ, Ng LL. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart*, 2016; 102(11): 841-8.
47. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2007; 50(16): 1561-9.
48. Tang WW, Hazen SL. Dietary metabolism, gut microbiota and acute heart failure. *Heart*, 2016; 102(11): 813-4.
49. Wang Z, Roberts AB, Buffa JA, Levison BS, Zhu W, Org E, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 2015; 163(7): 1585-95.
50. Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Liepins J, Cirule H, Gustina D, et al. Suppression of intestinal microbiota-dependent production of proatherogenic trimethylamine N-oxide by shifting L-carnitine microbial degradation. *Life Sci*, 2014; 117(2): 84-92.
51. Brugère JF, Borrel G, Gaci N, Tottey W, O'Toole PW, Malpuech-Brugère C. Archaeobiotics: proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease.
52. Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, Cox LM, Blaser MJ. Infant antibiotic exposures and early life body mass. *Int J Obes (Lond)*, 2013; 37(1): 16-23.
53. Stepankova R, Tonar Z, Bartova J, Nedorost L, Rossman P, Poledne R, et al. Absence of microbiota (germ-free conditions) accelerates the atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed standard low cholesterol diet. *J Atheroscler Thromb*, 2010; 17(8): 796-804.
54. Singh V, Yeoh BS, Vijay-Kumar M. Gut microbiome as a novel cardiovascular therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol*, 2016; 27: 8-12.
55. Alang N, Kelly CR. Weight gain after fecal microbiota transplantation. *Open Forum Infect Dis*, 2015; 2(1): ofv004.