

Review Article/Derleme Makale

# Kardiyovasküler hastalıklarda bağırsak mikrobiyotasının rolü

## *The role of microbiota in cardiovascular diseases*

Ebrar Kökcü  <sup>1\*</sup>

Üla Akil  <sup>2</sup>

Esmâ Asil  <sup>3</sup>

1 Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

2 Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

3 Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

### Article info

#### Anahtar Kelimeler:

Kardiyovasküler hastalıklar, mikrobiyota düzenlenmesi, bağırsak mikrobiyotası

#### Keywords:

Cardiovascular diseases, microbiota regulation, gut microbiota

Received: 05.08.2022

Accepted: 10.11.2022

E-ISSN: 2979-9511

Available online at <https://jfng.toros.edu.tr>

#### Corresponding author:

\* Ebrar Kökcü, [ebrarkokcu@gmail.com](mailto:ebrarkokcu@gmail.com)

### ÖZET

Dünya genelinde kardiyovasküler hastalıkların morbiditesi ve mortalitesi oldukça yüksektir. Bu durum hastalığın patogenezi ile tedavi yöntemlerinin sürekli araştırılmasına neden olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kardiyovasküler hastalıkların pek çok kronik hastalıkla ilişkisi olduğu gibi bağırsak mikrobiyotasıyla da ilişkili olduğunu göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotası vücudun en büyük endokrin organı olarak kabul edilmektedir. Mikrobiyotanın çeşitliliği genetik ve pek çok çevresel faktörden etkilendiği için bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasının, diyet tedavisi, probiyotik tedavi, antibiyotik tedavisi, fekal mikrobiyota transplantasyonu, mikrobiyal enzim inhibitörleri gibi çeşitli uygulamalarla düzenlenmesinin kardiyovasküler hastalıklar için de potansiyel bir tedavi olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bağırsak mikrobiyotasının kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda ve gelişimindeki rolünü anlamak, hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve tedavi için yeni fikirler sunulmasına yardımcı olacaktır. Bu derlemede, bağırsak mikrobiyotası ile metabolitlerinin kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi anlatılmıştır.

**ABSTRACT**

The morbidity and mortality of cardiovascular diseases are quite high worldwide. This situation causes the pathogenesis of the disease and the treatment methods to be constantly investigated. Studies conducted in recent years show that cardiovascular diseases are associated with many chronic diseases as well as with intestinal microbiota. Intestinal microbiota is accepted as the largest endocrine organ of the body. The diversity of the microbiota differs between individuals as it is affected by genetic and many environmental factors. It is thought that the regulation of the intestinal microbiota with various applications such as diet therapy, probiotic therapy, antibiotic therapy, fecal microbiota transplantation, microbial enzyme inhibitors may also be a potential treatment for cardiovascular diseases. Therefore, understanding the role of the gut microbiota in the occurrence and development of cardiovascular diseases will help to better understand the pathogenesis of the disease and provide new ideas for treatment. In this review, the relationship between intestinal microbiota and its metabolites and cardiovascular diseases is explained.

**GİRİŞ**

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), gelişmiş ülkelerde önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerinden birisidir. Dünya Sağlık Örgütü; 2018 yılında tahmini 17.9 milyon insanın KVH sebebiyle hayatını kaybettiğini ve bunun bütün küresel ölümlerin %31'si olduğunu bildirmektedir (World Health Organization, 2018). Dünya genelinde obezite, Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) ve metabolik sendrom gibi KVH risk faktörlerinde gözlenen artış da, kardiyometabolik bozuklukların seyrini önlemek ve değiştirmek için daha etkili stratejiler geliştirilmesini gerektirmektedir (Tang et al., 2017).

Kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılmasında beslenme ve fiziksel aktivite önerilerinin yer aldığı yaşam tarzı değişiklikleri etkin rol oynamaktadır (Yeşil and Altıok, 2012, Ravera et al., 2016). Bunun yanı sıra son yıllarda yapılan çalışmalarda KVH gelişiminde bağırsak mikrobiyotasının da etkisinin olduğu, mikrobiyotaya yapılan müdahalelerin konak fizyolojisini etkilediği gös-

terilmiştir (Emoto et al., 2016, Tang et al., 2017, Witkowski et al., 2020). Beslenme alışkanlıkları, intestinal enfeksiyon veya çeşitli çevresel faktörler yetişkin bireylerin bağırsağında yer alan mikroorganizmaların türünde ve miktarında değişikliklere yol açmaktadır. Bu durumun sonucunda gelişen bağırsak disbiyozunun da KVH gelişme riskini etkilediği tahmin edilmektedir (Jin et al., 2019). Bu derlemede, kardiyovasküler hastalıklarla bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki ve bu ilişkide etkili olan mekanizmalar tartışılmıştır.

**1. KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARIN GELİŞİMİNDE BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ ROLÜ**

İnsan vücudunda çok sayıda bakteri, arke, virüs ve tek hücreli ökaryot bulunmaktadır. Konak ile birlikte yaşayan mikroorganizmalar topluluğu olarak adlandırılan mikrobiyota başta kolon olmak üzere özellikle gastrointestinal kanalda kolonize olmuştur (Tang et al., 2017). Sağlıklı insan bağırsağında *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* filumlarına ait mikroorganizmalar çoğunlukta olup mikrobiyota ile konakçı arasında simbiyotik bir ilişki bulunmaktadır (Zabell and Tang, 2017).

Bağırsak mikrobiyotası konağın sindirim sürecine, sakkarolitik veya proteolitik olarak sınıflandırılan 2 ana katabolik yolla katılmaktadır. Sakkarolitik yol kısa zincirli yağ asidi (KZYA) üretimi ile sonuçlanırken ikinci katabolik yol protein fermentasyonu ile amonyak, çeşitli aminler, tiyoller, fenoller ve indoller gibi diğer kometabolitlerin üretimine yol açmaktadır (Tang et al., 2017). Fermentasyon sonucu ortaya çıkan metabolitler, bağırsak epitelinden emilerek distal organlara ulaşmakta ve vücut işlevini etkileyebilmektedir (Schiattarella et al., 2019). Mikrobiyotanın sindirim sürecine olan etkisinin dışında vitamin metabolizmasını düzenleme, patojenlere karşı koruma, bağışıklık hücrelerini uyararak bağışıklığı güçlendirme gibi farklı mekanizmalarla konakçı sağlığını etkilediği bilinmektedir (Katsi et al., 2019, Suganya et al., 2021). Bağırsak mikrobiyotası genetik faktörlerin yanı sıra diyet, yaşam tarzı, antibiyotik kullanımı, enfeksiyon hastalıkları gibi çevresel faktörlerden etkilenmekte (Tang et al., 2017), bunun sonucunda da mikrobiyotadaki

mikroorganizmaların miktarı ve çeşitliliği değişmektedir. Özellikle bağırsakta en fazla bulunan *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* arasındaki oranın bozulması kronik hastalıkların gelişimine sebep olmaktadır (Schiattarella et al., 2019).

Aterosklerotik plaklarda bakteri DNA'sına rastlanması ve bu plaklarda gözlenen bakteriyel taksonların aynı bireylerin bağırsaklarında da gözlenmesi bağırsak mikrobiyotası ile KVH arasındaki ilişkiyi işaret etmektedir (Koren et al., 2011). Bu konuda yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı olan bireylerin bağırsak mikrobiyota profillerini tanımlamak için terminal kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizm yöntemi kullanılmış, *Lactobacillales* ve *Clostridium alt kümesi XIV'de* bir artış ile dışkı örneklerinde yer alan *Bacteroides'te* bir azalma görülmüştür (Emoto et al., 2017). Başka bir çalışmada konjenital kalp hastalığı olan bebeklerin bağırsaklarındaki hem toplam bakteri sayısının hem de *Bacteriodes* ve *Bifidobacter* sayısının sağlıklı bebeklerden daha az olduğu belirlenmiştir (Ellis et al., 2013). Aterosklerotik kalp hastalığı olan bireylerde *Enterobacteriaceae* ve *Streptococcus spp* içeriğinin sağlıklı kontrollerden daha fazla bulunması da KVH olan bireylerde mikrobiyota dengesinin değiştiğini göstermektedir (Jie et al., 2017).

Bağırsak mikrobiyotası konakçı ile, lipopolisakkarit (LPS) ve peptidoglikan gibi metabolizmadan bağımsız yollar ile KZYA, trimetilamin (TMA), trimetilamin N-oksit (TMAO) ve safra asitleri aracılığıyla etkileşime girmektedir (Brown and Hazen, 2015). Bağırsak bakterileri, konağın kardiyovasküler durumunu etkileyebilen metabolik ürünler üretebilmektedir. Buna örnek olarak, dolaşımdaki dalı zincirli amino asit metabolitleri, triptofan ve histidin seviyeleri, insülin direnci ve vasküler bozukluk arasındaki ilişkiyi vermek mümkündür.

### 1.1. Trimetilamin ve Trimetilamin N-Oksit

Bağırsak mikrobiyotası, fosfatidilkolin, kolin veya l-karnitin gibi diyet bileşenlerini TMA'ya dönüştürür. Oluşan TMA, konakçı tarafından atılır veya emilerek hepatik flavin içeren monooksijenazlar (FMO'lar) yoluyla TMAO'ya çevrilmektedir (Albenberg and Wu, 2014).

Fosfatidilkolin kırmızı et, kabuklu deniz ürünle-

ri ve yumurtada bulunan bir fosfolipittir. Fosfatidilkolin ile ilişkili olan metabolitlerden l-karnitin ve  $\gamma$ -bütirobetain plazma seviyelerinin artmış kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Wang et al., 2011, Koeth et al., 2013, Koeth et al., 2014, Skagen et al., 2016). Yapılan bir çalışmada ateroskleroza olan hastaların serum  $\gamma$ -bütirobetain düzeylerinde artış olduğu ve yüksek  $\gamma$ -bütirobetain ve öncüsü trimetilizin seviyeleri ile kardiyovasküler mortalitenin ilişkili olduğu bulunmuştur (Skagen et al., 2016).

Fosfatidilkolinin bir bileşeni olan kolin alımı da plazma TMAO seviyesini değiştirmektedir (Lawson-Yuen and Levy, 2006). Çalışmalarda plazma TMAO düzeyinin aterosklerotik stenoz ile pozitif kolerasyon gösterdiği ve yüksek plazma düzeyinin kardiyovasküler olay riskindeki artışla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Senthong et al., 2016, Tang et al., 2013). TMAO ters kolesterol taşınımını inhibe ederek ateroskleroz gelişimine katkıda bulunmaktadır (Koeth et al., 2013). Ayrıca TMAO'nun vasküler hücrelerde prostaglandin G/H sentaz2 (siklooksijenaz 2), interlökin-6 (IL-6), E-selektin ve nükleer faktör- $\kappa$ B'nin aktivasyonu yoluyla hücre içi adezyon molekülü 1 dahil olmak üzere ateroskleroza neden olan inflamatuvar proteinleri indüklediği (Seldin et al., 2016) ve artan TMAO seviyesinin trombosit aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Zhu et al., 2016). Flavon içeren monooksijenaz 3 (FMO3) ekspresyonu kadınlarda ve dişi farelerde daha yüksek seviyededir (Bennett et al., 2013). Yapılan bir çalışmada, TMA üreten bakteri suşları ile kolonize edilen gnotobiotik dişi farelerin erkek farelere göre daha yüksek TMAO seviyelerine ve hepatik FMO3 aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Romano et al., 2015). Farelerde FMO3'ün yıkımı ise, plazma TMAO seviyesini ve aterosklerotik lezyonları azaltmaktadır (Shih et al., 2015, Miao et al., 2015).

### 1.2. Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) bağırsak mikrobiyotası tarafından diyet lifi, dirençli nişasta, prebiyotik gibi besinlerin sindirilemeyen kısımlarının fermantasyonu sonucunda üretilmektedir (Topping and Clifton, 2001, Turnbaugh et al., 2006). Kolondaki KZYA'lerinin büyük çoğunluğu, basit alifatik iki, üç veya dört karbonlu olan

asetat, propiyonat ve bütirattan oluşmaktadır (Topping and Clifton, 2001). KZYA'ları metabolizmasındaki değişiklik, bağırsak bariyerinin bozulması ve bağırsak mikrobiyotasının disbiyozu ile ilişkilendirilmektedir (De la Cuesta-Zuluaga et al., 2018). Eksojen KZYA'ları kısmen splanknik yaktan geçerek endojen dolaşımdaki KZYA ile karışıp periferik kan dolaşımına ulaşmaktadır (Pouteau et al., 2003). Hayvan çalışmaları, KZYA'ların spesifik G proteinine bağlı reseptörlere bağlanabildiğini, böylece kan basıncını ve renin-angiotensin-aldosteron sistemini (RAAS) düzenlediğini belirlemiştir (Pluznick et al., 2013, Natarajan et al., 2016). Bazı çalışmalar KZYA'ların konakçının enerji metabolizmasına katıldığını (De la Cuesta-Zuluaga et al., 2018) ve ateroskleroz ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Aguilar et al., 2016).

Yüksek lifli diyet ile asetat takviyesi alan hipertansif farelerin bağırsak mikrobiyota profilinin düzeldiği ve kan basıncı, inflamasyon, kardiyak hipertrofi ve kardiyorenal fibrozda iyileşme olduğu belirlenmiştir (Marques et al., 2017). Benzer şekilde, sistolik kalp yetersizliği (KY) olan 84 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, düşük lif alımının disbiyozis ile ilişkili olduğu ve bunun da önemli düzeyde artmış kalp nakli gereksinimine ve yüksek mortaliteye yol açtığı bulunmuştur (Pasini et al., 2016). Bunun aksine genetik dilate kardiyomyopati bir fare modelinde lif ve asetat takviyesinin kardiyomyositleri apoptozdan veya olumsuz yeniden yapılanmadan koruyamadığı gösterilmiştir (Jama et al., 2020). Literatürde yer alan çelişkili çalışma sonuçları nedeni ile KY tedavisinde yüksek lifli diyet ve KZYA takviyesinin kullanımı araştırılmaya devam etmektedir (Marques et al., 2017, Jama et al., 2020, Pasini et al., 2016).

### 1.3. Safra Asiti

Safra asitleri bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu etkilemekte ve bağırsaktaki mikrobiyal büyümeyi inhibe etmektedir (Hofmann and Eckmann, 2006). Kolona az bir kısmı ulaşan primer safra asitlerini mikrobiyota dekonjugasyon, 7 $\alpha$ -dehidroksilasyon ve 7 $\alpha$ -hidrojenasyon dahil olmak üzere çeşitli modifikasyonlarla sekonder safra asitlerine dönüştürmektedir (Begley et al., 2005). Safra asitleri, nükleer bir reseptör

olan, glikoz ve lipit metabolizması gibi çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyen farnesoid x reseptör (FXR)'üne bağlanmaktadır (Lefebvre et al., 2009). FXR agonistlerini kullanan çalışmalar, FXR'nin ateroskleroza eğilimli farelerde koruyucu bir rolü olduğunu göstermiştir (Miyazaki-Anzai et al., 2014, Hartman et al., 2009, Mencarelli et al., 2009). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, FXR fonksiyon kaybı ile ateroskleroz ve lipit metabolizmasındaki defektlerin artması arasında pozitif ilişki olduğu bulunmuştur (Hanniman et al., 2005). Buna karşılık FXR eksikliğinin, aort lezyonlarının ve plazma LDL kolesterolünün azalmasına yardımcı olduğunu bulan çalışma sonuçları da literatürde yer almaktadır (Guo et al., 2006, Zhang et al., 2006). Bu nedenle safra asitleri ile FXR'nin aterogenezdaki rolünün tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Primer safra asitlerinin miyokard üzerinde negatif inotropik ve kronotropik etkilere neden olduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (Binah et al., 1987, Joubert, 1978). Yapılan bir çalışmada, safra asidi reseptörü türü olan Takeda G proteinine bağlı reseptör 5 (TGR5) aktivasyonunun, miyokard sağ kalımını ve stres yanıtını iyileştirdiği bulunmuştur (Eblimit et al., 2018). Başka bir çalışmada, KY olan hastalarda kontrol grubuna göre primer safra asit miktarının daha düşük, sekonder safra asiti ile primer safra asiti oranının ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Mayerhofer et al., 2017). Von Haehling ve ark. (Von Haehling et al., 2012) sekonder safra asidi olan ursodeoksikolik asit verdikleri KY hastalarında, periferik kan akışının iyileştiğini ve inflamasyonun azaldığını saptamıştır. Literatürde yer alan bu sonuçlar göz önüne alındığında, safra asitleri arasındaki dengesizliğin, artış veya azalmanın, KY'nin gelişimi ve progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

## 2. KARDİOVASKÜLER HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE BAĞIRSAK MİKROBİYOTA MÜDAHALELERİ

Bağırsak mikrobiyotasının iyileştirilmesi amacıyla uygulanan prebiyotik ve probiyotik tedavi, fekal mikrobiyota transplantasyonu, antibiyotik tedavisi, TMA-liyaz inhibitörlerinin kullanımı gibi yöntemlerin kardiyovasküler hastalıkların



önlenmesinde ve tedavi sürecinde kullanılmasına yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Gan et al., 2014, Kumar et al., 2016, Hu et al., 2019, Lam et al., 2012, Roberts et al., 2018). Tüm bunların yanında KVH'ları önleme ve tedavi etmede kullanılan beslenme tedavisinin gösterdiği olumlu etkilerin bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi ile sağlandığı düşünülmektedir (Anselmi et al., 2021).

Kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu olan Akdeniz veya DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension)" diyetleri aynı zamanda KVH mortalitesini de azaltmaktadır (Lopez-Garcia et al., 2014, Xu et al., 2020). Her iki diyet tedavisinin de temelinde saf karbonhidrat, doymuş yağ, kolesterol ve tuz alımının azaltılması, sebze, meyve, posa ve tekli doymamış yağ asitlerinin alımının artırılması yer almaktadır. Bu beslenme değişikliği barsak mikrobiyotasını da iyileştirerek KVH, çeşitli kanser türleri gibi bulaşıcı olmayan kronik hastalıklardan korunmada fayda sağlanmaktadır (Duttaroy, 2021).

### 2.1. Prebiyotik ve Probiyotik Tedavi

Probiyotikler esas olarak bifidobakterileri, mayaları, laktik asit bakterilerini içermektedir. İnflamasyonu inhibe etme, bağırsak mukozal bariyerini koruma ve onarma, bağırsak fonksiyonunu iyileştirme fizyolojik etkilerinden bazılarıdır (Kurtaran, 2021). Gan ve ark. yaptıkları çalışmada, akut miyokard enfarktüsü geçiren sıçanlarda probiyotiklerin (*Lactobacillus rhamnosus* GR-1) sol ventrikül hipertrofisini ve ejeksiyon fraksiyonunu önemli ölçüde iyileştirdiğini belirlemiştir (Gan et al., 2014). Kronik KY olan hastalarda *Saccharomyces boulardii* takviyesinin sol atriyal çap ve ventrikül ejeksiyon fraksiyonu üzerinde olumlu etkisi olduğu bulunmuştur (Costanza et al., 2015). Prebiyotik olan oligofruktozun sıçanlarda inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Kumar et al., 2016). Koroner arter tıkanıklığına sahip farelerde yapılan bir çalışmada probiyotik olarak *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 kullanımının KY gelişimini geciktirebileceği bulunmuştur (Gan et al., 2014). Ayrıca *Methanomassiliococcus luminyensis* B10'un TMA'yı hidrojen ile indirgeyip TMA seviyesini dolayısıyla plazma TMAO seviyesini de azaltarak KVH'yi tedavi etmek için kullanabileceği

düşünülmektedir (Brugère et al., 2014).

### 2.2. Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu

Fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT), yararlı mikroorganizmaların sağlıklı konaklardan hastaların gastrointestinal sistemine aktarılması yoluyla bağırsak patojenlerini inhibe etmek böylece bağırsak mikrobiyotasının normal işlevlerini yeniden oluşturmak amacıyla tasarlanmış olası bir terapötik müdahaledir. FMT çoğunlukla *Clostridium difficile* enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılmaktadır. Tedavi edilen vakalarda yan etki görülme sıklığı düşük olmasına rağmen FMT'nin diğer hastalıklara uygulanabilirliği hala tartışılmaktadır (Cammarota et al., 2014). Araştırmalar otolog dışkı transplantasyonunun, antibiyotik kullanımından sonra sağlıklı insanların bağırsak mikrobiyota çeşitliliğini hızla geri kazanabileceğini göstermiştir (Taur et al., 2018). Otoimmün miyokardit geliştiren hastalarda fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, FMT bağırsak mikrobiyota ağını yeniden dengelemekte ve miyokardite ilişkili miyokardiyal hasarı azaltabilmektedir (Hu et al., 2019).

Tüm bu umut vadeden sonuçların yanı sıra FMT ile konakta bulunan endotoksinlerin veya bulaşıcı ajanların da transfer edilme riski bulunmaktadır. FMT'nin KVH tedavisinde kullanılabilmesi için, yan etki ve diğer risklerin olasılığını azaltmak ve uygulamanın verimliliğini artırmak için araştırılması gerekmektedir (Xu et al., 2020). Obstrüktif uyku apneli (OSA) sıçanlarla yapılan bir çalışmada; yüksek yağlı diyetle beslenen hipertansif OSA sıçanlardan, normal diyetle beslenen normotansif sıçanlara FMT yapılmıştır. Çalışmanın sonunda alıcı hayvanlarda da yüksek kan basıncı geliştiği gözlemlenmiştir (Durgan et al., 2016). Kalp yetersizliği risk faktörleri veya mevcut KY olan hastalarda, düşük TMAO içeren bağırsak mikrobiyotası transferinin yüksek TMAO düzeyini azaltabileceği düşünülse de henüz böyle bir klinik çalışma bulunmamaktadır.

### 2.3. Antibiyotikler

Kardiyovasküler hastalıklara yönelik yapılan antibiyotik müdahalelerinin farklı klinik sonuçları mevcuttur. Lam ve ark (Lam et al., 2012). ratlarda vankomisin kullanımının miyokard infarktüsü riskini %27 azalttığını göstermiştir.

İlacın bu etkiyi; bağırsak mikrobiyotasında yol açtığı değişiklik ile leptinin plazma seviyesini azaltarak sağladığı düşünülmüştür. Yapılan ikinci çalışmada leptin baskılayıcı probiyotik olan *Laktobasillus plantarum* 299v uygulamasının miyokart enfarktüsünde %29'luk azalma sağlaması da bu düşünceyi doğrulamıştır (Lam et al., 2012). Ancak yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı olan 4012 kişiye 1 yıl boyunca 600 mg azitromisin ve plasebo verilmiş ve çalışmanın sonunda antibiyotik tedavisinin kardiyak vaka gelişme riskine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Grayston et al., 2005). Andraws ve arkadaşlarının yaptığı meta-analiz çalışmasında da antibiyotik tedavisinin kardiyovasküler olay veya mortalite için önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varmıştır (Andraws et al., 2005). Kardiyovasküler hastalıklarda antibiyotik tedavisinin kullanımı ve bu tedavinin mikrobiyota ile olan bağlantısı konusunda daha fazla klinik araştırma yapılması gerekmektedir.

#### 2.4. Mikrobiyal TMA-Liyaz İnhibitörleri

Yapılan bir çalışmada resveratrol, bağırsak mikrobiyotasını yeniden şekillendirerek bağırsak mikrobiyal TMA oluşumunu inhibe ettiğini, TMAO seviyesini azalttığını ve böylece TMAO kaynaklı gelişen ateroskleroz etkisinin azaldığını bulmuştur.(Chen et al., 2016) Ratlarda yapılan bir çalışmada, kolin analogları kullanılarak TMA sentezinde anahtar enzim olan CutC/D'yi inhibe edilmiş ve bu sayede plazma TMAO seviyesi düşürülerek kardiyovasküler hastalık riski azaltılmıştır (Roberts et al., 2018). Başka bir çalışmada TMA üretimini ve dolayısıyla TMA'nın TMAO'ya dönüşümü azaltmak için batı diyetiyle beslenen farelere, bir TMA-liyaz inhibitörü olan 3,3-dimetil-1-butanol (DMB) verilmiştir. Çalışmanın sonunda TMA ve TMAO üretiminin inhibisyonunun hemodinamik parametrelerin iyileşmesini sağladığı belirlenmiştir (Chen et al., 2017). Ayrıca kolinin TMA'ya dönüşümünde etkili olan kolin trimetilamin-liyaz enziminin inhibisyonu da plazma TMAO seviyesini ve aort lezyonlarını azaltmaktadır (Wang et al., 2015).

#### SONUÇ

Sonuç olarak; bağırsak mikrobiyotasının kalp hastalıkları ile ilişkisi olduğuna dair kanıtlar

giderek artmaktadır. Ancak mikrobiyota bazlı tedavilerin kardiyovasküler hastalıkları başarılı bir şekilde tedavi edip edemeyeceği hala net değildir. Mikrobiyotayı değiştirmek amacı ile antibiyotik ve FMT ile tedavi ciddi yan etkilere neden olabileceği için mümkün görülmemektedir. Mikrobiyota bileşiminin diyet müdahaleleri ile değiştirilmesi veya TMAO gibi proaterojenik metabolit üreten yolların düzenlenmesi ile değiştirilmesi yeni terapötik stratejiler arasındadır. Daha pragmatik bir düzeyde, bağırsak-kardiyovasküler etkileşimlerden sorumlu kesin hücresel ve moleküler mekanizmaları belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

#### KAYNAKÇA

- Aguilar, E. C., Dos Santos, L. C., Leonel, A. J., De Oliveira, J. S., Santos, E. A., Navia-Pelaez, J. M., Da Silva, J. F., Mendes, B. P., Capettini, L. S., & Teixeira, L. G. (2016). Oral butyrate reduces oxidative stress in atherosclerotic lesion sites by a mechanism involving naph oxidase down-regulation in endothelial cells. *The Journal of nutritional biochemistry*, 34, 99-105.
- Albenberg, L. G., & WU, G. D. (2014). Diet and The intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology*, 146, 1564-1572.
- Andraws, R., Berger, J. S., & Brown, D. L. (2005). Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Jama*, 293, 2641-2647.
- Anselmi, G., Gagliardi, L., Egidi, G., Leone, S., Gasbarrini, A., Miggianno, G. A. D., & Galiuto, L. (2021). Gut microbiota and cardiovascular diseases: a critical review. *Cardiology in Review*, 29, 195-204.
- Begley, M., Gahan, C. G., & Hill, C. (2005). The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 625-651.
- Bennett, B. J., De Aguiar Vallim, T. Q., Wang, Z., Shih, D. M., Meng, Y., Gregory, J., Allayee, H., Lee, R., Graham, M., & Crooke, R. (2013). Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metabolism*, 17, 49-60.

- Binah, O., Rubinstein, I., Bomzon, A., & Better, O. S. (1987). Effects of bile acids on ventricular muscle contraction and electrophysiological properties: studies in rat papillary muscle and isolated ventricular myocytes. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 335, 160-165.
- Brown, J. M., & Hazen, S. L. (2015). The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases. *Annual Review of Medicine*, 66, 343-359.
- Brugère, J.-F., Borrel, G., Gaci, N., Tottey, W., O'toole, P. W., & Malpuech-Brugère, C. (2014). Archaeobiotics: proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease. *Taylor & Francis*.
- Camarota, G., Ianiro, G., & Gasbarrini, A. (2014). Fecal microbiota transplantation for the treatment of clostridium difficile infection: a systematic review. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 48, 693-702.
- Chen, K., Zheng, X., Feng, M., Li, D., & Zhang, H. (2017). Gut microbiota-dependent metabolite trimethylamine n-oxide contributes to cardiac dysfunction in western diet-induced obese mice. *Frontiers in Physiology*, 8, 139.
- Chen, M.-L., Yi, L., Zhang, Y., Zhou, X., Ran, L., Yang, J., Zhu, J.-D., Zhang, Q.-Y., & Mi, M.-T. (2016). Resveratrol attenuates trimethylamine-n-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis by regulating tmao synthesis and bile acid metabolism via remodeling of the gut microbiota. *Mbio*, 7, E02210-15.
- Costanza, A. C., Moscovitch, S. D., Neto, H. C. F., & Mesquita, E. T. (2015). Probiotic therapy with *saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *International Journal of Cardiology*, 179, 348-350.
- De La Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N. T., Álvarez-Quintero, R., Velásquez-Mejía, E. P., Sierra, J. A., Corrales-Agudelo, V., Carmona, J. A., Abad, J. M., & Escobar, J. S. (2018). Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors. *Nutrients*, 11, 51.
- Durgan, D. J., Ganesh, B. P., Cope, J. L., Ajami, N. J., Phillips, S. C., Petrosino, J. F., Hollister, E. B., & Bryan, R. M. (2016). Role of the gut microbiome in obstructive sleep apnea-induced hypertension. *Hypertension*, 67, 469-474.
- Duttaroy, A. (2021). Role of gut microbiota and their metabolites on atherosclerosis, hypertension and human blood platelet function: a review. *Nutrients*, 13 (1).
- Eblimit, Z., Thevananther, S., Karpen, S. J., Taegtmeier, H., Moore, D. D., Adorini, L., Penny, D. J., & Desai, M. S. (2018). Tgr 5 activation induces cytoprotective changes in the heart and improves myocardial adaptability to physiologic, inotropic, and pressure-induced stress in mice. *Cardiovascular Therapeutics*, 36, E12462.
- Ellis, C. L., Bokulich, N. A., Kalanetra, K. M., Mirman, M., Elumalai, J., Haapanen, L., Schegg, T., Rutledge, J. C., Raff, G., & Mills, D. A. (2013). Probiotic administration in congenital heart disease: a pilot study. *Journal of Perinatology*, 33, 691-697.
- Emoto, T., Yamashita, T., Kobayashi, T., Sasaki, N., Hirota, Y., Hayashi, T., So, A., Kasahara, K., Yodoi, K., & Matsumoto, T. (2017). Characterization of gut microbiota profiles in coronary artery disease patients using data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphism: gut microbiota could be a diagnostic marker of coronary artery disease. *Heart And Vessels*, 32, 39-46.
- Emoto, T., Yamashita, T., Sasaki, N., Hirota, Y., Hayashi, T., So, A., Kasahara, K., Yodoi, K., Matsumoto, T., & Mizoguchi, T. (2016). Analysis of gut microbiota in coronary artery disease patients: a possible link between gut microbiota and coronary artery disease. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 32672.
- Gan, X. T., Ettinger, G., Huang, C. X., Burton, J. P., Haist, J. V., Rajapurohitam, V., Sidaway, J. E., Martin, G., Gloor, G. B., & Swann, J. R. (2014). Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circulation: Heart Failure*, 7, 491-499.
- Grayston, J. T., Kronmal, R. A., Jackson, L. A., Parisi, A. F., Muhlestein, J. B., Cohen, J. D., Rogers, W. J., Crouse, J. R., Borrowdale, S. L., & Schron, E. (2005). Azithromycin for the secondary prevention of coronary events. *New England Journal of Medicine*, 352, 1637-1645.
- Guo, G. L., Santamarina-Fojo, S., Akiyama, T. E., Amar, M. J., Paigen, B. J., Brewer Jr, B., & Gonzalez, F. J. (2006). Effects of fxr in foam-cell formation and atherosclerosis development. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba)-Molecular and Cell Biology Of Lipids*, 1761, 1401-1409.
- Hanniman, E. A., Lambert, G., Mccarthy, T. C., & Signal, C. J. (2005). Loss of functional farnesoid x receptor increases atherosclerotic lesions in apolipoprotein e-deficient mice. *Journal of Lipid Research*, 46, 2595-2604.

- Hartman, H. B., Gardell, S. J., Petucci, C. J., Wang, S., Krueger, J. A., & Evans, M. J. (2009). Activation of farnesoid x receptor prevents atherosclerotic lesion formation in *ldlr*<sup>-/-</sup> and *apoe*<sup>-/-</sup> mice. *Journal of Lipid Research*, 50, 1090-1100.
- Hofmann, A. F., & Eckmann, L. (2006). How bile acids confer gut mucosal protection against bacteria. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 103, 4333-4334.
- Hu, X.-F., Zhang, W.-Y., Wen, Q., Chen, W.-J., Wang, Z.-M., Chen, J., Zhu, F., Liu, K., Cheng, L.-X., & Yang, J. (2019). Fecal microbiota transplantation alleviates myocardial damage in myocarditis by restoring the microbiota composition. *Pharmacological Research*, 139, 412-421.
- Jama, H. A., Fiedler, A., Tsyganov, K., Nelson, E., Horlock, D., Nakai, M. E., Kiriazis, H., Johnson, C., Du, X.-J., & Mackay, C. R. (2020). Manipulation of the gut microbiota by the use of prebiotic fibre does not override a genetic predisposition to heart failure. *Scientific Reports*, 10, 1-9.
- Jie, Z., Xia, H., Zhong, S.-L., Feng, Q., Li, S., Liang, S., Zhong, H., Liu, Z., Gao, Y., & Zhao, H. (2017). The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature Communications*, 8, 1-12.
- Jin, M., Qian, Z., Yin, J., Xu, W., & Zhou, X. (2019). The role of intestinal microbiota in cardiovascular disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23, 2343-2350.
- Joubert, P. (1978). An in vivo investigation of the negative chronotropic effect of cholic acid in the rat. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 5, 1-8.
- Katsi, V., Didagelos, M., Skevofilax, S., Armenis, I., Kartalis, A., Vlachopoulos, C., Karvounis, H., & Tousoulis, D. (2019). Gut microbiome-gut dysbiosis-arterial hypertension: new horizons. *Current Hypertension Reviews*, 15, 40-46.
- Koeth, R. A., Levison, B. S., Culley, M. K., Buffa, J. A., Wang, Z., Gregory, J. C., Org, E., Wu, Y., Li, L., & Smith, J. D. (2014).  $\gamma$ -butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of l-carnitine to TMAO. *Cell Metabolism*, 20, 799-812.
- Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., & Li, L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*, 19, 576-585.
- Koren, O., Spor, A., Felin, J., Fåk, F., Stombaugh, J., Tremaroli, V., Behre, C. J., Knight, R., Fagerberg, B., & Ley, R. E. (2011). Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 108, 4592-4598.
- Kumar, S. A., Ward, L. C., & Brown, L. (2016). Inulin oligofructose attenuates metabolic syndrome in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. *British Journal of Nutrition*, 116, 1502-1511.
- Kurtaran, B. (2021). Mikrobiyom ve mikrobiyota. *Ege Tıp Dergisi*, 88-93.
- Lam, V., Su, J., Koprowski, S., Hsu, A., Tweddell, J. S., Rafiee, P., Gross, G. J., Salzman, N. H., & Baker, J. E. (2012). Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *The FASEB Journal*, 26, 1727-1735.
- Lawson-Yuen, A., & Levy, H. L. (2006). The Use of betaine in the treatment of elevated homocysteine. *Molecular Genetics and Metabolism*, 88, 201-207.
- Lefebvre, P., Cariou, B., Lien, F., Kuipers, F., & Staels, B. (2009). Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiological Reviews*, 89, 147-191.
- Lopez-Garcia, E., Rodriguez-Artalejo, F., Li, T. Y., Fung, T. T., Li, S., Willett, W. C., Rimm, E. B., & Hu, F. B. (2014). The mediterranean-style dietary pattern and mortality among men and women with cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99, 172-180.
- Marques, F. Z., Nelson, E., Chu, P.-Y., Horlock, D., Fiedler, A., Ziemann, M., Tan, J. K., Kuruppu, S., Rajapakse, N. W., & El-Osta, A. (2017). High-fiber diet and acetate supplementation change the gut microbiota and prevent the development of hypertension and heart failure in hypertensive mice. *Circulation*, 135, 964-977.
- Mayerhofer, C. C., Ueland, T., Broch, K., Vincent, R. P., Cross, G. F., Dahl, C. P., Aukrust, P., Gullestad, L., Hov, J. R., & Trøseid, M. (2017). Increased secondary/primary bile acid ratio in chronic heart failure. *Journal Of Cardiac Failure*, 23, 666-671.
- Mencarelli, A., Renga, B., Distrutti, E., & Fiorucci, S. (2009). Antiatherosclerotic effect of farnesoid x receptor. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 296, H272-H281.
- Miao, J., Ling, A. V., Manthena, P. V., Gearing, M. E., Graham, M. J., Crooke, R. M., Croce, K. J., Esquejo, R. M., Clish, C. B., & Vicent, D. (2015). Flavin-containing monooxygenase 3 as a potential player in diabetes-associated atherosclerosis. *Nature Communications*, 6, 1-10.



- Miyazaki-Anzai, S., Masuda, M., Levi, M., Keenan, A. L., & Miyazaki, M. (2014). Dual activation of the bile acid nuclear receptor fxr and g-protein-coupled receptor tgr5 protects mice against atherosclerosis. *Plos One*, 9, E108270.
- Natarajan, N., Hori, D., Flavahan, S., Stepan, J., Flavahan, N. A., Berkowitz, D. E., & Pluznick, J. L. (2016). Microbial short chain fatty acid metabolites lower blood pressure via endothelial g protein-coupled receptor 41. *Physiological Genomics*, 48, 826-834.
- Pasini, E., Aquilani, R., Testa, C., Baiardi, P., Angioletti, S., Boschi, F., Verri, M., & Dioguardi, F. (2016). Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. *Jacc: Heart Failure*, 4, 220-227.
- Pluznick, J. L., Protzko, R. J., Gevorgyan, H., Peterlin, Z., Sipos, A., Han, J., Brunet, I., Wan, L.-X., Rey, F., & Wang, T. (2013). Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 110, 4410-4415.
- Pouteau, E., Nguyen, P., Ballèvre, O., & Krempf, M. (2003). Production rates and metabolism of short-chain fatty acids in the colon and whole body using stable isotopes. *Proceedings of The Nutrition Society*, 62, 87-93.
- Ravera, A., Carubelli, V., Sciatti, E., Bonadei, I., Gorga, E., Cani, D., Vizzardi, E., Metra, M., & Lombardi, C. (2016). Nutrition and cardiovascular disease: finding the perfect recipe for cardiovascular health. *Nutrients*, 8, 363.
- Roberts, A. B., Gu, X., Buffa, J. A., Hurd, A. G., Wang, Z., Zhu, W., Gupta, N., Skye, S. M., Cody, D. B., & Levison, B. S. (2018). Development of a gut microbe-targeted nonlethal therapeutic to inhibit thrombosis potential. *Nature Medicine*, 24, 1407-1417.
- Romano, K. A., Vivas, E. I., Amador-Noguez, D., & Rey, F. E. (2015). Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-n-oxide. *Mbio*, 6, E02481-14.
- Schiattarella, G. G., Sannino, A., Esposito, G., & Perrino, C. (2019). Diagnostics and Therapeutic implications of gut microbiota alterations in cardiometabolic diseases. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 29, 141-147.
- Seldin, M. M., Meng, Y., Qi, H., Zhu, W., Wang, Z., Hazen, S. L., Lusis, A. J., & Shih, D. M. (2016). Trimethylamine n-oxide promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- $\kappa$ b. *Journal of The American Heart Association*, 5, E002767.
- Senthong, V., Li, X. S., Hudec, T., Coughlin, J., Wu, Y., Levison, B., Wang, Z., Hazen, S. L., & Tang, W. W. (2016). Plasma trimethylamine n-oxide, a gut microbe-generated phosphatidylcholine metabolite, is associated with atherosclerotic burden. *Journal of The American College of Cardiology*, 67, 2620-2628.
- Shih, D. M., Wang, Z., Lee, R., Meng, Y., Che, N., Charugundla, S., Qi, H., Wu, J., Pan, C., & Brown, J. M. (2015). Flavin containing monooxygenase 3 exerts broad effects on glucose and lipid metabolism and atherosclerosis [S]. *Journal of Lipid Research*, 56, 22-37.
- Skagen, K., Trøseid, M., Ueland, T., Holm, S., Abbas, A., Gregersen, I., Kummen, M., Bjerkeli, V., Reier-Nilsen, F., & Russell, D. (2016). The carnitine-butyrobetaine-trimethylamine-n-oxide pathway and its association with cardiovascular mortality in patients with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 247, 64-69.
- Suganya, K., Son, T., Kim, K.-W., & Koo, B.-S. (2021). Impact of gut microbiota: how it could play roles beyond the digestive system on development of cardiovascular and renal diseases. *Microbial Pathogenesis*, 152, 104583.
- Tang, W. W., Kitai, T., & Hazen, S. L. (2017). Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circulation Research*, 120, 1183-1196.
- Tang, W. W., Wang, Z., Levison, B. S., Koeth, R. A., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., & Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *New England Journal of Medicine*, 368, 1575-1584.
- Taur, Y., Coyte, K., Schluter, J., Robilotti, E., Figueroa, C., Gjonbalaj, M., Littmann, E. R., Ling, L., Miller, L., & Gyaltshen, Y. (2018). Reconstitution of the gut microbiota of antibiotic-treated patients by autologous fecal microbiota transplant. *Science Translational Medicine*, 10, Eaap9489.
- Topping, D. L., & Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 1027-1031.
- Von Haehling, S., Schefold, J. C., Jankowska, E. A., Springer, J., Vazir, A., Kalra, P. R., Sandek, A., Fauler, G., Stojakovic, T., & Trauner, M. (2012). Ursodeoxycholic acid in patients with chronic heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover trial. *Journal of The American College of Cardiology*, 59, 585-592.

Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B. J., Koeth, R., Levison, B. S., Dugar, B., Feldstein, A. E., Britt, E. B., Fu, X., & Chung, Y.-M. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472, 57-63.

Wang, Z., Roberts, A. B., Buffa, J. A., Levison, B. S., Zhu, W., Org, E., Gu, X., Huang, Y., Zamanian-Daryoush, M., & Culley, M. K. (2015). Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 163, 1585-1595.

Witkowski, M., Weeks, T. L., & Hazen, S. L. (2020). Gut microbiota and cardiovascular disease. *Circulation Research*, 127, 553-570.

World Health Organization (2018). Noncommunicable diseases country profiles.

Xu, H., Wang, X., Feng, W., Liu, Q., Zhou, S., Liu, Q., & Cai, L. (2020). The Gut microbiota and its interactions with cardiovascular disease. *Microbial Biotechnology*, 13, 637-656.

Yeşil, P., & Altok, M. (2012). Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve kontrolünde fiziksel aktivitenin önemi. *Türk Kardiyoloji Derneği Kardiyovasküler Hemşirelik Dergisi*, 3, 39-48.

Zabell, A., & Tang, W. (2017). Targeting the microbiome in heart failure. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 19, 1-12.

Zhang, Y., Wang, X., Vales, C., Lee, F. Y., Lee, H., Lussis, A. J., & Edwards, P. A. (2006). Fxr deficiency causes reduced atherosclerosis in *ldlr*<sup>-/-</sup> mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26, 2316-2321.

Zhu, W., Gregory, J. C., Org, E., Buffa, J. A., Gupta, N., Wang, Z., Li, L., Fu, X., Wu, Y., & Mehrabian, M. (2016). Gut microbial metabolite tmao enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 165, 111-124.