FATMANUR DÜNDAR

İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ 2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERi ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI

MATERNAL DİSBİYOZİSİN FARELERDE KOLAJEN İLE İNDÜKLENEN ARTRİT GELİŞİMİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

FATMANUR DÜNDAR

(YÜKSEK LİSANS)

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI

MATERNAL DİSBİYOZİSİN FARELERDE KOLAJEN İLE İNDÜKLENEN ARTRİT GELİŞİMİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatmanur DÜNDAR

(YÜKSEK LİSANS)

DANIŞMAN:
Prof. Dr. H. Barbaros ORAL

TYL-2023-1567

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum "**Maternal Disbiyozisin Farelerde Kolajen İle İndüklenen Artrit Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması**" adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Fatmanur DÜNDAR
Tarih ve İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

06/01/2025

Adı Soyadı: Fatmanur DÜNDAR
Ana Bilim Dalı: İmmünoloji A.D.
Tez Konusu: Maternal Disbiyozisin Farelerde Kolajen İle İndüklenen Artrit Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	■	❑	
Dış Kapak Sayfası	■	❑	
İç Kapak Sayfası	■	❑	
Kabul Onay Sayfası	■	❑	
Sayfa Düzeni	■	❑	
İçindekiler Sayfası	■	❑	
Yazı Karakteri	■	❑	
Satır Aralıkları	■	❑	
Başlıklar	■	❑	
Sayfa Numaraları	■	❑	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	❑	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	❑	
Kaynaklar	■	❑	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Haluk Barbaros ORAL

İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYANI II
KABUL ONAY SAYFASI……... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU III
İÇİNDEKİLER …….....……..V
TÜRKÇE ÖZET VI
İNGİLİZCE ÖZET VII
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ……VIII
1.GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 5
2.1. Mikrobiyota 5
2.1.1. Mikrobiyotanin fonksiyonlari 5
2.1.2. Mikrobiyotanin çeşitliliği ve sağlik üzerindeki etkisi 6
2.1.3. Disbiyoz 6
2.1.4. Disbiyozun nedenleri 7
2.1.5. Disbiyoz ve sağlik üzerindeki etkileri 8
2.1.6. Disbiyozun önlenmesi ve tedavisi 9
2.2. Otoimmünite 9
2.2.1. İmmün tolerans: 9
2.2.2. T lenfosit toleransı 10
2.2.3. Anerji 11
2.2.4. Apoptotik hücre ölümü ile t hücrelerinin silinmesi 12
2.2.5. B lenfosit toleransı 13
2.2.6. Otoimmünitenin patogenezi 15
2.2.7. Genetik faktörler 15
2.3. Romatoid Artrit (RA) 16
2.3.1. Romatoid artrit patolojisi 16
2.3.2. Romatoid artrit ve mikrobiyota ilişkisi 18
2.3.4. Mikrobiyota temelli terapiler ve gelecek perspektifleri 20
2.4. Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu (FMT) 21
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER 22
3.1. Gereçler 22
3.2. Yöntem 22
3.2.1. Hayvan seçimi ve grupların oluşturulması 22
3.2.2. FMT uygulanması 23
3.2.3. Mikrobiyal popülasyonun NGS (yeni nesil sekanslama) yöntemi ile belirlenmesi 24
3.2.4. Farelerde kolajen ile indüklenen artrit (CIA) modeli oluşturulması 25
3.2.4.1. Artritin klinik değerlendirilmesi……..….27
3.2.5. Histopatolojik incelemeler 26
3.2.6. İstatistiksel analiz 27
4. BULGULAR 28
4.1. Disbiyozis ve FMT' nin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri 28
4.2. Disbiyozis ve FMT' nin Beden Ağırlığı Kazanımı Üzerindeki Etkileri 30

4.3. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Uygulanan Hayvanlarda Artrit Indüklenmesinin Karşılaştırılması 31

4.4. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Sonrası Artrit Ile Indüklenen Hayvanların Histopatoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması 33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 36
5.1. Disbiyozis ve FMT' nin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri..... 36
5.2. Disbiyozis ve FMT' nin Beden Ağırlığı Kazanımı Üzerindeki Etkileri 38
5.3. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Uygulanan Hayvanlarda Artrit Indüklenmesinin Karşılaştırılması 39
5.4. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Sonrası Artrit ile Indüklenen Hayvanların Histopatoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması 39
6. KAYNAKLAR 42
7. SİMGELER VE KISALTMALAR 50
8. EKLER 51
9. TEŞEKKÜR 53
10. ÖZGEÇMİŞ 54

TÜRKÇE ÖZET

Bağırsak mikrobiyotasının besinlerin metabolize edilmesi, immünmodülasyon ve bağırsak bariyerinin bütünlüğünün korunması gibi birçok farklı görevi bulunmaktadır. Doğum sırasında bakterilerin nesiller arası geçişi, memelilerde bağırsak mikrobiyotasının gelişimini başlatır. Bu süreç, antibiyotik maruziyeti ile değişebilir ya da bozulabilir. Bu bozukluklar ‘’disbiyozis’’ olarak adlandırılır. Erken yaşamda mikrobiyotada meydana gelen disbiyoiz organizmanın gelişimini ve ileri yaşta fizyolojik, patofizyolojik ve immünolojik mekanizmalarını etkileyebilir.

Son çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının hem lokal, hem de sistemik olarak doğal ve adaptif bağışıklığın tepkilerini şekillendirerek uzak organları da etkileyebileceğini göstermiştir.

Çalışmamızda, maternal disbiyozisin ve fekal mikrobiyota transplantasyonunun (FMT) otoimmün bir hastalık olan romatoid artritin fare modeli olan kolajenle indüklenen artrit (CIA) modeli üzerinde etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla gebe Balb/c farelere gebeliğin son haftasından itibaren yavruların 8 haftalık yaşına kadar amoksisilin vankomisin karışımı antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. FMT grubundaki farelere antibiyotik tedavisi bittikten sonra oral FMT tedavisi uygulanmıştır. Mikrobiyota değişikliği deneyleri tamamlandıktan sonra farelerin bağırak mikrobiyotasındaki bakteriyel profillerin sekanslanmıştır. Sonrasında kontrol grubu, disbiyozis grubu ve FMT gruplarındaki farelere CIA oluşturulmuştur.

Sonuç olarak maternal disbiyoizisin farelerde bağırsak mikrobiyotasındaki bakteri popülasyonunu önemli ölçüde düşürdüğü, FMT’ nin ise bakteri populasyonlarının tekrar çoğalmasını sağladığı görülmüştür. Bununla birlikte disbiyozun CIA modelinde artrit şiddetini arttırdığı ve FMT ile bu hasarın geriletilebileceği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: maternal disbiyozis, fekal transplantasyon, romatoid artrit, bağırsak mikrobiyotası

İNGİLİZCE ÖZET

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MATERNAL DYSBIOSIS ON THE DEVELOPMENT OF COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS IN MICE

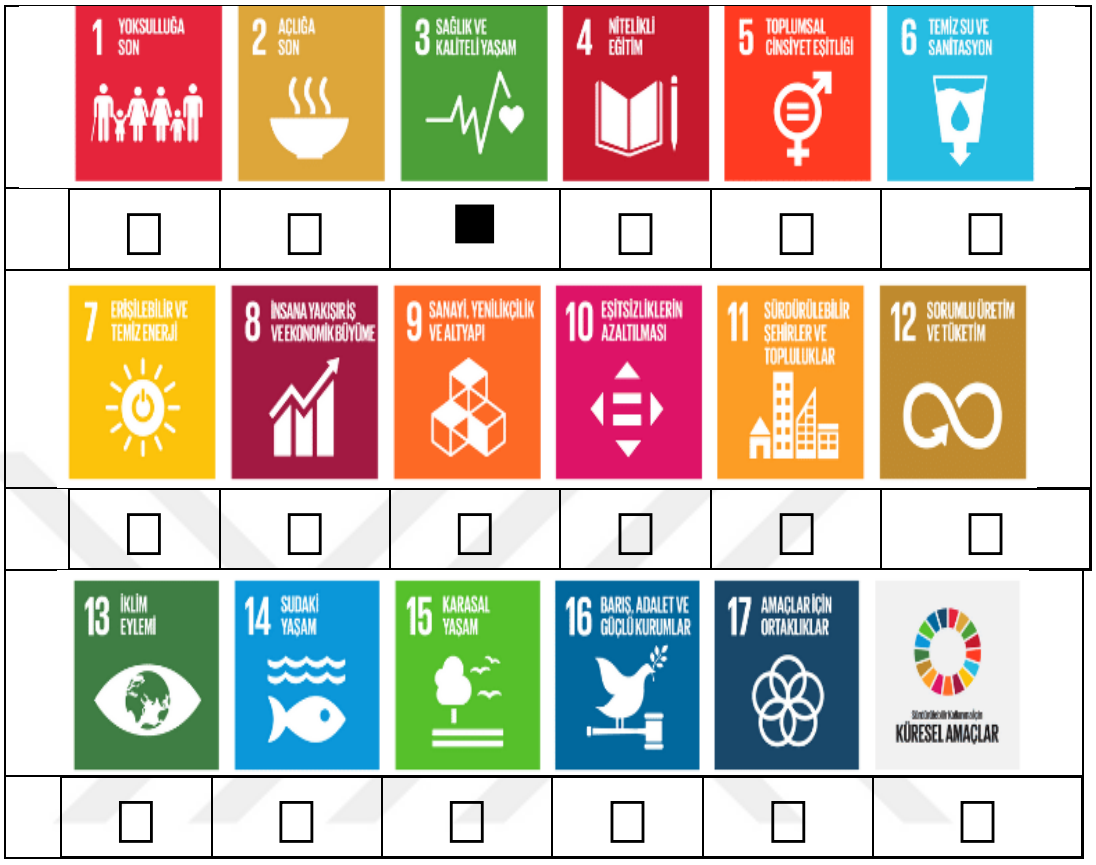
The gut microbiota is essential for nutrient metabolism, immunomodulation, and maintaining gut barrier integrity. During birth, intergenerational bacterial transfer initiates gut microbiota development in mammals, a process that can be disrupted by antibiotic exposure, causing dysbiosis. Early-life dysbiosis may influence development and long-term physiological and immunological mechanisms.

This study examines the effects of maternal dysbiosis and fecal microbiota transplantation (FMT) on collagen-induced arthritis (CIA), a mouse model of rheumatoid arthritis. Pregnant Balb/c mice received an amoxicillin-vancomycin antibiotic regimen from late pregnancy until their offspring were 8 weeks old. After antibiotic treatment, oral FMT was administered in the FMT group. Gut microbiota alterations were assessed by sequencing bacterial and archaeal profiles. CIA was then induced in control, dysbiosis, and FMT groups.

Maternal dysbiosis significantly reduced bacterial populations in the gut microbiota, while FMT partially restored them. Dysbiosis exacerbated arthritis severity in the CIA model, whereas FMT alleviated some of the damage. These findings indicate that maternal dysbiosis disrupts microbial balance, increasing arthritis susceptibility, and suggest FMT as a potential therapeutic strategy for mitigating the adverse effects of dysbiosis on immune-related diseases.

Key words: Maternal dysbiosis, Fecal transplantation, Rheumatoid arthritis, Gut microbiota

BUÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ



Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum **““Maternal Disbiyozisin Farelerde Kolajen İle İndüklenen Artrit Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması”** başlıklı tez **3.** Küresel Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri ile ilişkilidir.

1. GİRİŞ

Bağırsak ve bağırsak mikrobiyotasının organizma sağlığı açısından önemi hipokrattan bu yana bilinmektedir (Myers & Hawrelak, 2004). Son yıllarda, bağırsak ortamındaki bakterilerin etkisine ilişkin araştırmaların çoğu gastrointestinal populasyona ve onların hastalıklara neden olma biçimlerine odaklanmıştır (Sekirov, Russell, Antunes & Finlay, 2010). İnsan vücudunda çok sayıda bakteri, arke, virüs ve tek hücreli ökaryot bulunmaktadır. Konakçılarıyla barış içinde bir arada yaşayan mikroorganizma topluluğuna mikrobiyota, mikroflora veya normal flora adı verilmiştir (Kunz, Kuntz & Rudloff, 2009). İnsan mikrobiyotasının 10^{14} kadar bakteri hücresi içerdiği tahmin edilmektedir; bu sayı, vücudumuzda bulunan insan hücresi sayısından 10 kat daha fazladır (Ley, Peterson & Gordon, 2006). Mikrobiyota, insan vücudunun dış ortama maruz kalan hemen hemen her yüzeyini kolonize eder. Mikroplar cildimizde, genitoüriner, gastrointestinal ve solunum yollarında gelişir (Chiller, Selkin, & Murakawa, 2001) Şimdiye kadar en yoğun kolonize olmuş organ gastrointestinal sistemdir (GİS); kolonun tek başına insan vücudundaki tüm mikropların %70'inden fazlasını içerdiği tahmin edilmektedir. İnsan bağırsağının tahmini yüzey alanı bir tenis kortu kadardır (200 m^2) ve bu kadar büyük bir organ olarak mikrobiyal kolonizasyon için önemli bir yüzey oluşturur (Ley, Peterson & Gordon, 2006). Bağırsak mikrobiyotasının çoğunluğu, fakültatif anaerobladan, aeroblardan ve bunlardan 2-3 kat daha fazla olan zorunlu anaeroblardan oluşur. (Gordon & Dubos, 1970). Bugüne kadar 50'den fazla bakteri şubesi tanımlanmış olmasına rağmen, insan bağırsak mikrobiyotasına bunlardan yalnızca 2'si hakimdir: Bacteroidetes ve Firmicutes. Buna karşın Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria ve Cyanobacteria daha az oranda mevcuttur. İnsan bağırsağında bulunan bakteri türlerinin sayısı farklı çalışmalar arasında büyük ölçüde değişiklik göstermektedir, ancak genel olarak yaklaşık 500 ila 1.000 tür içerdiği kabul edilmiştir (Eckburg ve ark., 2005). Bağırsak mikrobiyotasının besinlerin metabolize edilmesi, immünmodülasyon ve bağırsak bariyerinin bütünlüğünün korunması gibi birçok farklı görevi bulunmaktadır (Sender, Fuchs & Milo, 2016). Ayrıca bağırsakta yaşayan kommensal bakteriler başlıca mukus, antibakteriyel ve antifungal peptidlerin salınımında, bağırsakta bulunan patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunun

engellenmesinde ve bağırsak ile ilişkili lenf nodüllerini uyararak mukozal immünoglobulin-A üretimini arttırmada rol oynar (Groschwitz & Hogan, 2009). Bağırsak mikrobiyotası kolonizasyonu doğum öncesi dönemde başlar (Stiemsma ve ark., 2016). Son çalışmalar amniyon sıvısı, plasenta, göbek kordonu kanı, mekonyumda bakteri varlığını kanıtlamıştır (Ling ve ark., 2014). Annenin hamilelik öncesi ve sırasındaki diyeti, kullandığı ilaçlar, çevresel faktörler çocuğun bağırsak mikrobiyotasının gelişimini etkiler (Barker, 1995). Mikrobiyotanın oluşumundaki bir sonraki adım doğumdur. Doğum yöntemi (vajinal doğum ve sezeryan gibi) de mikrobiyota kolonizasyonu için büyük önem taşır. (Wampach ve ark., 2018).

Mikrobiyal ekosistemi değiştirecek şekilde, mikrobiyotada kompozisyonel ve fonksiyonel bir değişim meydana gelmesi "disbiyozis" olarak tanımlanmaktadır. Disbiyozisin, hem lokal hem de sistemik inflamasyonu tetikleyerek, farklı klinik özelliklere sahip birçok hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Jernberg, Lofmark, Edlund & Jansson, 2010). Son zamanlarda birçok bilim insanı, otoimmün hastalıkların da bu gruba dâhil olduğunu göstermiş ve hastalıkların patogenezinde kommensal bakterilerin önemine odaklanmıştır (Jernberg, Lofmark, Edlund & Jansson, 2010). Bağırsak disbiyozuna erken bebeklik döneminde antibiyotik kullanımıyla ve annenin doğum öncesi veya doğum sırasında antimikrobiyal ilaç kullanımıyla meydana gelebileceği gösterilmiştir. Bu durumun da yenidoğan bağırsak mikrobiyotasını değiştirebileceği, immünolojik olgunlaşma üzerinde uzun vadeli etkilere yol açabileceği ve kronik hastalık potansiyelini artırabileceği düşünülmektedir (Francino, 2015). Rahimde antibiyotiklere maruz kalan yenidoğanlarda düşük bakteri çeşitliliği, özellikle bebeklikte insan bağırsağını kolonize ettiği bilinen ilk mikroplar olan ve hayati bir bağışıklık ekosistemini başlattığından şüphelenilen Lactobacillus ve Bifidobacterium türlerinin düşük seviyeleri bulunmuştur. Antibiyotiklerin doğumda veya sonrasında kullanımı, anneden yenidoğana maternal bağırsak, vajina, cilt ve/veya anne sütündeki sağlıklı mikrobiyotanın geçişini bozabilir (Walker, Clemente, Peter & Loos, 2017). Mikrobiyom ve metabolom üzerindeki etkilere ek olarak, antibiyotikler epigenetiği ve fetal gelişimi değiştirebilir (Vidal ve ark., 2013). Bu bilgiler ışığında günümüzde önemli bir soru, anne-fetüsün antibiyotiklere maruz kalmasının bu mekanik ilişkiler yoluyla, bağışıklık aracılı hastalık riskini artırıp artırmadığıdır (Mueller, Bakacs, Combellick, Grigoryan, & Dominguez-Bello, 2015).

Bağırsak mukozal ve sistemik bağışıklık sistemlerinin gelişiminde bağırsak mikrobiyotasının önemi, GF (Germ Free: mikrobiyota eksikliği olan) hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalardan kolayca anlaşılabilir. GF hayvanlar, anormal sayıda çeşitli bağışıklık hücresi tipi ve bağışıklık hücresi ürünü içerir ve ayrıca lokal ve sistemik lenfoid yapılarda eksiklikler vardır. GF farelerinin dalakları ve lenf düğümleri zayıf bir şekilde oluşmuştur (Bouskra ve ark., 2018). GF farelerinde ayrıca Peyer plakları (PP) ve olgun izole lenfoid foliküllerinin sayısında azalma vardır. IgA üreten plazma hücrelerinin sayısı, salgılanan immünoglobulinlerin (hem IgA hem de IgG) seviyeleri gibi azalır. Ayrıca sitokin seviyelerinde ve profillerinde düzensizlikler gösterirler (Ishikawa ve ark., 2008). GF hayvanlar tarafından sergilenen önemli bir bağışıklık yetersizliği, CD4+ T hücre popülasyonlarının genişlememesidir. Bu yetersizlik, GF farelerinin *Bacteroides fragilis 'in* polisakkarit A 'sı ile tedavisi ile tamamen tersine çevrilebilir (Mazmanian, Liu, Tzianabos & Kasper, 2005). Ayrıca bacteroidetes filumuna ait önemli oranda bakteri içeren karmaşık bir mikrobiyal topluluğun, inflamatuar Th17 hücrelerinin farklılaşması için gerekli olduğu gösterilmiştir (Ivanov ve ark., 2008). GİS (gastorintestinal sistem), hem lokal hem de sistemik olarak aşırı zararlı bağışıklık aktivasyonu indüklenmeden, üzerinde bulunan yoğun bakteri halısıyla bir arada var olmalıdır. Bağırsak mikrobiyotasından gelen sayısız bakteriye karşı aşırı bağışıklık tepkisinin önlenmesi, bakterilerin ve konak hücrelerinin fiziksel olarak ayrılması, mikrobiyotanın antijenik kısımlarının daha az immünojenik hale getirilmesi için değiştirilmesi veya lokalize konak bağışıklık tepkisinin toleransa doğru modüle edilmesi yoluyla sağlanabilir. GİS'deki yerleşik bağışıklık hücreleri genellikle sistemik olarak bulunan aynı soydan gelen hücrelerden farklı bir fenotipe sahiptir. Örneğin, bağırsak mukozasında bulunan Dendritik Hücreler (DH) yerleşik T hücrelerinin Th2 (yardımcı t hücresi 2) ve Treg (düzenleyici T hücreleri) alt gruplarına farklılaşmasını öncelikli olarak başlatır ve sonuç olarak GIT' de daha toleranslı bir durumu teşvik eder (Kelsall & Leon, 2005).

Tam da bu sebeplerle maternal disbiyoz, bağışıklık fonksiyonunu bozarak bağışıklık sisteminin enfeksiyonlarına, hassaslaşmasına ve otoimmün hastalıklara neden olur (Stanisavljević ve ark., 2016). Otoimmün hastalıklar, bir kişinin bağışıklık sisteminin kendi dokularına saldırmasından kaynaklanır. Bu durumun temeli de kaybolmuş veya hasara uğramış bağışıklık töleransıdır. Dünya genelinde en yaygın

görülen kronik inflamatuvar hastalıklardan biri olan romatoid artrit (RA); ağrılı sinovyal inflamasyon, kemik erozyonları, immün sistem aktivasyonu ve otoantikorların varlığı ile karakterize, kronik, otoimmün bir hastalıktır (Mazmanian, Liu, Tzianabos & Kasper, 2005). Birçok çalışmada bağırsak mikrobiyotasındaki periodontitis popülasyonu ve RA arasında bir ilişki bulmuştur. Ayrıca kollajenle indüklenen artrit (CIA) fare modelinde artritin immün hazırlık fazı sırasında Bacteroidaceae'de bir azalma; Firmicutes, Proteobacteria (Ruminococcaceae, Lachnospiraceae) ve Desulfovibrinocaceae'de bir artış bildirilmiştir. (Ivanov ve ark., 2009).

Disbiyozis kavramı nasıl bağırsak mikrobiyotasının bozulmasını ifade ediyorsa bunu geri döndürmeye çalışmak da mümkündür. Probiyotikler, prebiyotikler, sağlıklı beslenme bunların arasında yer almaktadır. Bunun dışında son zamanlarda Fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) de disbiyozisin geri döndürülmesinde önemli bir yer almaktadır. FMT tıbbi literatürdeki diğer isimleriyle fekal bakteriyoterapi, gaita transplantasyonu veya fekal transfüzyon, sağlıklı donörden alınan gaitanın, alıcının gastrointestinal sistemine (GİS) yerleştirilmesi işlemidir. Modern tıpta ilk olarak 1958 yılında, Eiseman ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (EISEMAN, Silen, GS, & AJ, 1958). Bağırsak mikrobiyotasındaki bakterilerin çok büyük bir kısmı kültürü yapılmayan bakterilerdir. Bununla beraber sağlıklı mikrobiyal populasyon tam olarak tanımlanabilmiş değildir. Bu sebeple sağıklı mikrobiyotaya sahip bireyden diğerine mikrobiyota transplantasyonu yapmak umut verici bir yaklaşım olarak görülmektedir.

Bu literatürler ışığında organizmanın sağlıklı gelişimi ve çeşitli hastalıklara karşı bağışıklık sisteminin modülasyonu ve hatta otoimmün hastalıkların gelişimi açısından sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası büyük bir öneme sahip olduğu bilinmektedir. Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyota kazanımının daha maternal yaşamdan başladığı göz önüne alınarak, çalışmamızda bir ilk olarak ototimmün kronik bir hastalık olan RA gelişimi açısından maternal olarak kazanılan bağırsak mikrobiyotasının öneminin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda deneysel olarak maternal yaşamdan başlanarak bağırsak mikrobiyotası disbiyozunun ve disbiyozis sonrası FMT'nin farelerde kollajenle indüklenen artritin seyri ve şiddeti üzerinde etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikrobiyota

Mikrobiyota, insan vücudunda yaşayan ve genellikle konakçıyla simbiyotik bir ilişki kurarak onun sağlığına katkı sağlayan mikroorganizmalardan oluşan bir topluluktur. Bu mikroorganizmalar, genellikle bağırsak, deri, ağız, solunum yolları ve ürogenital sistem gibi farklı vücut bölgelerinde yoğunlaşır (O'Hara & Shanahan, 2006). İnsan vücudu, yaklaşık 10 trilyon insan hücresine karşılık, 100 trilyon mikroorganizma ile evrimsel bir ilişki içindedir, bu da mikrobiyotanın vücutta önemli bir yer tutmasını sağlar (Sender, Fuchs & Milo 2016). Organizmaya yerleşen mikroorganizmaların büyük çoğunluğu doğum sonrası erken yaşamda kolonize olarak canlının immün sisteminin gelişmesinde rol almaktadır (Sudo ve ark., 1997). Genetik (Goodrich ve ark., 2016), diyet (Carmody ve ark., 2015- David ve ark., 2014), yaşam tarzı (Allen ve ark., 2015) ve coğrafya (Kang ve ark., 2014) bağırsak mikrobiyomunu şekillendiren faktörler arasında bulunmaktadır. Gebelik süresince korunaklı bir ortamda bulunan fetüsün mikroorganizmalarla ilk teması doğum sırasında olmaktadır. Normal doğumla doğan yavruların bağırsak mikrobiyomunda Lactobacillus ve Prevotella türleri ağırlıklı olarak bulunurken; sezaryen ile doğanlarda Staphylococcus ve Corynebacterium türlerinin yaygın olduğu bildirilmektedir (Bäckhed ve ark., 2015- Dominguez-Bello ve ark., 2010). Yetişkinlik döneminde ise bağırsak mikrobiyomunun %99'unu, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria ve Actinobacter grubuna ait bakteriler oluşturmaktadır (Ley ve ark., 2008). Bağırsak mikrobiyotası olarak bilinen, bağırsak sisteminde yaşayan bakteri, virüs, mantar ve ökarya topluluğu, fizyolojik bireyler arası değişkenliğe katkıda bulunan en önemli özelliklerden birini temsil etmekle birlikte (Halpern, Cifaldi & Kvien, 2009) gelişmekte olan bağırsak mikrobiyotası, yaşamın erken döneminde endokrin, bağışıklık ve metabolik yolların eşzamanlı olgunlaşmasında ayrılmaz ve birbirine bağımlı bir şekilde yer aldığı öne sürülmektedir (Tran, Lundy & Fox, 2005).

2.1.1. Mikrobiyotanın fonksiyonları

Mikrobiyota, insan sağlığında önemli rol oynayan bir dizi biyolojik işlevi gerçekleştirir. Bağırsakta yaşayan kommensal bakteriler başlıca mukus, antibakteriyel ve antifungal peptidlerin salınımında rol oynar. Ayrıca bağırsakta bulunan patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellenmesi ve bağırsak ile ilişkili lenf

nodüllerini uyararak mukozal immünoglobulin-A (IgA) üretimini de arttırmaktadırlar (Bischoff ve ark., 2014). Sindirim sürecinde görev alarak besinlerin parçalanmasına yardımcı olur ve vücuda enerji sağlarlar. Mikrobiyota, bağırsaklarda kısa zincirli yağ asitleri (short chain fatty acid SCFA) üretir ve bu asitler bağırsağın epitel hücrelerini besler, inflamasyonu engeller ve bağışıklık sistemini düzenler (Hooper, Littman, & Macpherson, 2012). Mikrobiyotanın bu metabolik rolü, bağışıklık fonksiyonlarıyla yakından ilişkilidir. Bağışıklık sistemi, mikrobiyota ile sürekli etkileşim halindedir ve bu etkileşim bağışıklık yanıtlarını düzenlemekte önemli bir yer tutar. Toll-like reseptörler gibi örüntü tanıma reseptörleri (PRR Pattern Recognition Receptors), mikrobiyota ile etkileşerek bağışıklık hücrelerini aktive eder ve bağışıklık sistemini eğitir. Bu süreç, mikropların patojenik türlerden ayırt edilmesine ve vücudun onlara karşı doğru yanıtı vermesine yardımcı olur. Mikrobiyota, aynı zamanda bağışıklık toleransını sağlamak için Treg hücrelerinin (düzenleyici T hücreleri) aktivasyonunu destekler (Rakoff-Nahoum, Paglino, Eslami-Varzaneh, Edberg, & Medzhitov, 2004).

2.1.2. Mikrobiyotanın çeşitliliği ve sağlık üzerindeki etkisi

Mikrobiyotanın çeşitliliği, sağlıklı bir bağışıklık yanıtının ve genel sağlık durumunun korunmasında kritik öneme sahiptir. Mikrobiyota çeşitliliği yüksek olan bireylerde, genellikle daha sağlam bir bağışıklık sistemi ve daha düşük inflamasyon seviyeleri gözlemlenir. Bu çeşitlilik, vücudun sağlıklı işleyişi için gereklidir, çünkü tek bir mikroorganizma türünün baskın olduğu bir mikrobiyota, hastalıkların gelişimine yol açabilir. Mikrobiyota çeşitliliği, metabolik hastalıklar, bağışıklık bozuklukları ve inflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Lozupone, Stombaugh, Gordon, Jansson & Knight, 2012). Çeşitliliğin azalması, genellikle disbiyoz olarak tanımlanır ve bu durum, birçok sağlık sorununun temel nedeni olabilir.

2.1.3. Disbiyoz

Disbiyoz, mikrobiyota bileşiminin dengesizleşmesi durumunu ifade eder. Normalde vücutta bulunan mikroorganizmalar arasında bir denge vardır; ancak çevresel faktörler, beslenme alışkanlıkları, genetik faktörler, antibiyotik kullanımı gibi etmenler bu dengeyi bozabilir. (Jernberg, Lofmark, Edlund, & Jansson 2010) Disbiyoz, genellikle faydalı bakterilerin azalması ve patojenik mikroorganizmaların

artışıyla karakterizedir. Bu durum, vücudun savunma mekanizmalarını zayıflatabilir, bağışıklık yanıtlarını bozar ve bir dizi hastalığa yol açabilir (Ley, Turnbaugh, Klein, & Gordon, 2006).

2.1.4. Disbiyozun nedenleri

- Antibiyotik Kullanımı: Antibiyotikler, sadece patojenik mikroorganizmaları değil, aynı zamanda bağırsaktaki faydalı bakterileri de öldürebilir. Uzun süreli veya aşırı antibiyotik kullanımı, mikroflora çeşitliliğinin azalmasına ve disbiyozun gelişmesine neden olabilir (Fröhlich ve ark., 2016). Bu, patojenlerin yerleşmesini kolaylaştırabilir ve bağışıklık sisteminin etkinliğini azaltabilir.
- Dengesiz Beslenme: Yüksek yağlı, işlenmiş gıda ve düşük lifli diyetler, bağırsak mikrobiyotasının dengesini bozabilir. Lif, bağırsak bakterilerinin sağlıklı bir şekilde büyümesini ve SCFA'lar üretmesini sağlayan temel bir besin kaynağıdır. Bu tür diyetler, özellikle Firmicutes türlerinin artmasına, Bacteroidetes türlerinin ise azalmasına yol açabilir (Ley, Turnbaugh, Klein, & Gordon, 2006). Ayrıca, şekerli ve yüksek karbonhidratlı diyetler, patojenik mikroorganizmaların proliferasyonunu teşvik edebilir.
- Stresten Etkilenme: Kronik stres, bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkiler yaparak mikrobiyota dengesizliğine yol açabilir. Stres, bağırsak peristaltizmini etkileyebilir ve bağırsak mikrobiyotasında inflamasyonu artırabilir, bu da disbiyozun gelişmesine neden olur (Molina-Torres, Rodriguez-Arrastia, Roman, Sanchez-Labraca & Cardona, 2019).
- Genetik Faktörler: Genetik faktörler de mikrobiyotanın kompozisyonunu etkileyebilir. Bireylerin genetik yapıları, onların mikrobiyal topluluklarının çeşitliliğini ve kompozisyonunu belirleyebilir. Bu, disbiyozun bazı genetik eğilimlerle daha belirgin hale gelmesine yol açabilir (Frank ve ark., 2007).

2.1.5. Disbiyoz ve sağlık üzerindeki etkileri

Disbiyoz, çeşitli sağlık sorunlarının gelişmesine zemin hazırlayabilir. Mikrobiyota çeşitliliğinin azalması, bağışıklık yanıtlarının bozulmasına, metabolik bozukluklara, sindirim sorunlarına, otoimmüniteye ve hatta ruhsal hastalıklara yol açabilir.

- İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (IBD**):** Disbiyoz, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının (Crohn hastalığı, ülseratif kolit gibi) gelişimine katkı sağlayabilir. Bu hastalıkların patogenezinde, özellikle Firmicutes ve Bacteroidetes arasındaki denge kaybı ve patojenik bakterilerin artışı önemli rol oynar (Frank ve ark., 2007). Bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlik, bağışıklık sisteminin aşırı reaksiyon vermesine ve bağırsaklarda kronik iltihaplanmalara yol açar.
- Obezite ve Metabolik Sendrom: Bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlik, enerji metabolizmasını etkileyebilir ve obezite gibi metabolik bozuklukların gelişmesine neden olabilir. Firmicutes bakterilerinin fazla olması, bağırsaklardan daha fazla yağ asiti sentezlenmesine yol açabilir ve bu da kilo alımına zemin hazırlar (Bäckhed ve ark., 2004). Ayrıca, disbiyoz, insülin direncine ve metabolik sendroma da yol açabilir.
- Kardiyovasküler Hastalıklar: Disbiyoz, Trimethylamine-N-oxide (TMAO) gibi pro-inflamatuar metabolitlerin üretimini artırabilir, bu da damar sertliği ve kalp hastalıkları riskini artırır (Rath ve ark., 2021). Mikrobiyota, lipid metabolizmasına da etki eder.
- Psikiyatrik Bozukluklar: Bağırsak mikrobiyotası ve beyin arasındaki ilişki, bağırsak-beyin ekseni olarak bilinir. Disbiyoz, depresyon, anksiyete ve diğer psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilebilir. Mikrobiyotadaki dengesizlik, beyindeki nörotransmitterlerin üretimini etkileyerek ruh hali bozukluklarına neden olabilir (Dinan & Cryan, 2012). Özellikle, bağışıklık sistemi aracılığıyla beyinle etkileşen mikrobiyal metabolitler, bu hastalıkların patogenezine katkıda bulunabilir.

- Otoimmün Hastalıklar: Mikrobiyota dengesizliği, bağışıklık sisteminin kendine karşı aşırı reaksiyon göstermesine neden olabilir, bu da otoimmün

hastalıkların gelişimine yol açabilir. Bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık toleransını sağlamak için gereklidir; dolayısıyla, disbiyoz, bu toleransın kaybolmasına yol açabilir (Lima-Junior ve ark., 2021).

2.1.6. Disbiyozun önlenmesi ve tedavisi

Disbiyozun tedavisinde, probiyotikler, prebiyotikler ve diyet değişiklikleri gibi stratejiler kullanılabilir. Prebiyotikler, bağırsak mikroflorasını besleyen ve sağlıklı mikroorganizmaların büyümesini teşvik eden maddelerdir. Probiyotikler ise, bağırsak mikrobiyotasında dengeyi yeniden kurmaya yardımcı olabilecek canlı mikroorganizmalardır. Ayrıca, antibiyotik kullanımının sınırlanması, stres yönetimi ve sağlıklı bir diyet, disbiyozun önlenmesi ve tedavisinde önemli rol oynar (Bäckhed ve ark., 2004)

2.2. Otoimmünite

Otoimmünite, organizmanın öz antijenlerine karşı bağışıklık yanıtı geliştirmesi olarak tanımlanır. Bu durum, T ve B lenfositlerindeki self-tolerans mekanizmalarının düzgün çalışmaması sonucunda meydana gelir. Tolerans mekanizmalarının kaybı, sıklıkla çoklu genlerin etkisiyle kalıtılan bir hastalık grubunu, yani otoimmün hastalıkları ortaya çıkarır. Otoimmün bir hastalığın oluşması için, otoreaktif bir lenfositin merkezi veya periferik tolerans süreçlerinden kaçarak, bir bağışıklık yanıtı başlatması ve bunun klinik düzeyde hasarla sonuçlanması gereklidir. Bu hastalıkların oluşumuna inflamasyon, moleküler benzerlik, bağışıklık sistemi bileşenlerinde görülen bozukluklar ve "epitop spreading" gibi mekanizmaların katkıda bulunduğu öne sürülmektedir. Genetik yatkınlığı bulunan bireylerde, özellikle enfeksiyonların başta geldiği çevresel faktörlerin bu süreci tetiklediği düşünülmektedir. İnsan lökosit antijenleri (HLA) başta olmak üzere, otoimmün hastalıklara duyarlılık yaratan pek çok gen tanımlanmıştır. Ayrıca enfeksiyonlar, hormonlar, ilaçlar ve ultraviyole ışınlar gibi çeşitli çevresel faktörlerle otoimmünite arasındaki ilişki ortaya konmuştur (Akca & Bilginer, 2021).

2.2.1. İmmün tolerans:

Adaptif bağışıklık sisteminin belirli antijenlere yanıt vermemesi, bu antijenlere maruz kalma sonrasında oluşan lenfositlerin inaktivasyonu ya da ölümüyle sağlanır ve

bu duruma immün tolerans denir (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022). Kendi antijenlerine karşı gelişen tolerans, edinilmiş bağışıklık sisteminin temel bir özelliğidir. Ancak, belirli koşullar altında yabancı antijenlere karşı da toleransın indüklenmesi mümkündür (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022). Toleransı indükleyen antijenler, bağışıklık oluşturabilen immünojenlerden ayırt edilebilmesi için "tolerojen" veya "tolerojenik antijen" olarak adlandırılır. Spesifik lenfositler tarafından tanınma şekline bağlı olarak, bir antijen immünojen ya da tolerogen özellik gösterebilir (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

Tolerans, bağışıklık sistemi üzerindeki genel baskılamadan ya da immün yetmezlik durumlarından farklıdır; bu süreç tamamen antijene özgüdür (Owen, Punt, Stranford, Jones, & Kuby, 2013). "Self-tolerans" olarak da bilinen kendi antijenlerine tolerans, bağışıklık sisteminin düzgün işleyişi için hayati bir öneme sahiptir. Ancak self-tolerans mekanizmalarının çalışmaması durumunda, bağışıklık sistemi kendi antijenlerine karşı reaksiyon geliştirebilir. Bu reaksiyonlar "otoimmünite" olarak tanımlanırken, neden oldukları hastalıklar "otoimmün hastalıklar" olarak adlandırılır (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022).

İmmün yanıt gibi, tolerans da antijene özeldir ve hem T hücrelerini hem de B hücrelerini ya da her ikisini birden etkileyebilir (Owen, Punt, Stranford, Jones, & Kuby, 2013).

2.2.2. T lenfosit toleransı

Transplantların kabulü veya otoantijenlere karşı immün toleransın oluşturulmasına yönelik terapötik stratejiler genellikle T hücrelerinin baskılanması veya yok edilmesini hedefler. Bu stratejilerin temelinde, patolojik inflamatuar tepkilerin büyük ölçüde T hücreleri tarafından yönlendirilmesi ve özellikle CD4+ yardımcı T hücrelerinin, B hücrelerini zararlı antikor üretimine teşvik etme potansiyeline sahip olması yatmaktadır (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022).

Merkezi tolerans**,** T lenfositlerinin gelişimi sırasında timusta, self-reaktif T hücrelerinin klonal eliminasyonu ile sağlanır. Merkezi tolerans mekanizması, en kapsamlı şekilde, gelişmekte olan T hücrelerinin, MHC molekülleri ile birlikte kendi peptitlerini tanıma kapasitelerine dayanan iki önemli süreçle incelenmiştir: pozitif seçim ve negatif seçim (Snyder, 2017). Timustaki antijen sunan hücreler (ASH'ler), T

hücrelerine kendi MHC molekülleriyle birlikte self-peptitler sunar ve bu süreç, pozitif seçim aşamasıyla başlar. Timik kortikal epitel hücreleri, pozitif seçim sürecinde, MHC'ye bağlanabilen T hücrelerinin hayatta kalmasına ve olgunlaşmasına izin verirken bağlanamayanları apoptoza yönlendirir (Singh, Dubey, & Pinkhasov, 2013).

Pozitif seçimden geçen T hücreleri daha sonra, negatif seçim adı verilen bir aşamada, self-MHC ile yüksek aviditeyle bağlanan T hücrelerinin apoptoza uğradığı süreçten geçer. Negatif seçim sırasında, plazma proteinleri ve hücresel proteinler gibi antijenler önemli bir rol oynar. Ayrıca, periferik dokulara özgü proteinlerin timik epitel hücrelerinde üretimi, otoimmün düzenleyici (AIRE) proteini tarafından yönlendirilir. AIRE, merkezi toleransın sağlanmasında kritik bir rol oynar ve bu proteinle ilişkili genlerdeki mutasyonlar, otoimmün poliendokrin sendromu (APS) gibi dokuya özgü otoimmün hastalıklara neden olur (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

Bununla birlikte, timusta self-antijenleri tanıyan bazı CD4+ T hücreleri, apoptoz yoluyla ortadan kaldırılmaz; bunun yerine düzenleyici T hücrelerine (Treg) farklılaşır. Bu Treg hücreleri timustan çıkarak periferik dokulara yerleşir ve burada immün yanıtı baskılamak için işlev görür (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022).

Periferik tolerans**,** olgun T hücrelerinin periferik dokulardaki kendi antijenlerine yanıt vermesini engelleyen mekanizmadır. Bu tolerans, anerji (fonksiyonel yanıtsızlık), Treg hücreleri aracılığıyla baskılanma ve apoptoz yoluyla T hücrelerinin ortadan kaldırılması gibi süreçlerle sağlanır (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022).

2.2.3. Anerji

Anerji; bir lenfositin antijenle karşılaşmasının ardından işlevsel olarak yanıt vermemesi, ancak hiporesponsif (düşük yanıtlı) bir durumda uzun süre canlı kalması ile karakterize edilen bir lenfosit tolerans mekanizmasıdır (Schwartz, 2003). T hücresi anerjisi iki temel türe ayrılır: biri proliferasyonu durduran klonal anerji, diğeri ise proliferasyon ve efektör fonksiyonların genelleştirilmiş inhibisyonuyla karakterize olan adaptif tolerans veya in vivo anerjidir (Schwartz, 2003).

T hücre aktivasyonunun iki sinyalli modeline göre, T hücrelerinin aktive olması için antijen sunan hücrelerin (ASH) T hücre reseptörlerini (THR, sinyal 1) ve kostimülasyonu (CD28/B7; sinyal 2) sağlaması gereklidir. Ancak anerjiyi indükleyen mekanizmalardan biri, T hücre yüzeyindeki CTLA-4 molekülleri aracılığıyla B7

molekülleriyle etkileşime girerek spesifik bir inhibitör sinyalin iletilmesidir. CTLA-4 ile B7 arasındaki bu etkileşim, IL-2 üretimini bloke eder ve T hücre aktivasyonunu engeller. Anerji, bir kez indüklendiğinde geri döndürülemez bir süreçtir (Snyder, 2017). Ayrıca, kostimülatör moleküllerin normal dokular tarafından sınırlı ekspresyonu, kendi kendine reaktif lenfositlere karşı periferik toleransı destekleyen kritik bir faktördür. Genel olarak, CD28 dinlenme veya aktivasyon halinde olsun tüm T hücrelerinde eksprese edilirken, CTLA-4 sadece aktive olmuş T hücrelerinde ifade edilir (Snyder, 2017).

Anerji indüksiyonu sırasında, T hücrelerinin "eksik" uyarılması (kostimülasyon olmadan THR aktivasyonu), kalsiyum akışı yoluyla bazı E3 ubikuitin ligazların ekspresyonunu artıran bir gen düzenleme sürecini başlatır. Anerjik T hücreleri ASH'lerle temas ettiğinde, hücre içi sinyal proteinleri monoubikitinasyon ile işaretlenir ve lizozomal degradasyona yönlendirilir. Bu süreç, hücre içi sinyal iletimini azalttığı gibi, T hücresi ile ASH arasındaki etkileşimin stabilitesini de düşürür (Snyder, 2017).

Treg Hücreleri Tarafından Baskılanma: Otoimmüniteyi düzenleyen veya baskılayan birçok T hücresi alt grubu tanımlanmıştır. Bu alt grupların en çok çalışılanı, CD4+ CD25+ Foxp3+ olarak tanımlanan düzenleyici T hücreler (Treg)'dir ve bu hücreler başka bir bölümde detaylandırılmıştır (Singh, Dubey, & Pinkhasov, 2013). Treg hücrelerinin baskılayıcı etkisi, TH1 yanıtlarının çapraz düzenlenmesiyle ortaya çıkabilir. Spesifik olarak, IL-4, IL-10 ve TGF-β gibi sitokinler üreten CD4+ CD25+ Treg hücreleri, lenfosit aktivasyonu ve efektör fonksiyonlarını etkili bir şekilde baskılayarak Th1 yanıtlarını azaltır (Snyder, 2017).

2.2.4. Apoptotik hücre ölümü ile T hücrelerinin silinmesi

Hem timusta hem de periferik dokularda kendine reaktif lenfositlerin elimine edilmesi, apoptotik hücre ölümü ile sağlanır. Bu süreçte hem Fas aracılı hem de Bim aracılı apoptoz yolları, periferdeki kendine reaktif lenfositlerin ortadan kaldırılmasında kritik bir rol oynar (Xing & Hogquist, 2012). Fas aracılı "ölüm reseptörü" sinyali ile BCL-2 ailesi tarafından düzenlenen apoptotik yolak birbirinden mekanik olarak farklıdır; ancak bu iki yolak koordineli bir şekilde çalışarak, kronik olarak kendi

antijenleriyle uyarılan T lenfositlerinin elimine edilmesine katkıda bulunur (Xing & Hogquist, 2012).

T hücrelerinin, kostimülasyon olmaksızın veya doğuştan gelen bağışıklık yanıtının eşlik etmediği bir ortamda kendi antijenlerini tanıması, Bim olarak bilinen bir pro-apoptotik proteinin aktive olmasına yol açabilir. Bu, mitokondriyal yolla gerçekleşen apoptotik hücre ölümünü tetikler (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007). Normal bir lenfosit yanıtında, THR (T hücre reseptörü), kostimülasyon molekülleri ve büyüme faktörleri, Bcl-2 ve Bcl-x gibi Bcl-2 protein ailesine ait anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu teşvik eder. Bu proteinler, T hücrelerinin hayatta kalmasını ve proliferasyonunu destekler (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

Lenfositler, bağışıklık sistemi uyarımı sonucunda, Fas (CD95) olarak bilinen, TNF reseptör ailesine ait bir molekülü eksprese edebilir. Fas ligandı (FasL) ise ağırlıklı olarak aktive edilmiş T lenfositlerde bulunur. Fas ile FasL'nin etkileşimi, T hücrelerinin apoptozu ile sonuçlanır. Özellikle yüksek düzeyde antijen eksprese eden dokular, kendine reaktif T hücrelerinin kalıcı uyarılmasına ve böylece Fas-FasL aracılı apoptotik yol ile silinmesine yol açar (Snyder, 2017).

FAS genindeki mutasyonlar, özellikle çocuklarda, lenfosit birikimine ve otoimmün hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS), bu mutasyonlarla ilişkili bir hastalıktır ve malign olmayan organomegali, immün sitopeniler, artmış lenfoma riski ile karakterizedir. ALPS, genellikle FAS aracılı apoptotik yolaktaki kusurlar ile ilişkilendirilir (Snyder, 2017).

2.2.5. B lenfosit toleransı

T hücrelerinde olduğu gibi, B hücreleri de oto-reaktiviteyi önlemek amacıyla merkezi ve periferik tolerans mekanizmalarına sahiptir. B hücre toleransı, hem kemik iliğinde merkezi tolerans aşamasında hem de olgunlaşma sürecinin farklı aşamalarında ve olgun B hücrelerinde periferik tolerans aşamasında sağlanır (Singh, Dubey, & Pinkhasov, 2013). Polisakkaritler ve lipidler gibi T lenfositlerinden bağımsız öz antijenlere yanıtsızlığın korunmasında kritik bir role sahip olan B hücre toleransı, aynı zamanda protein antijenlerine karşı istenmeyen antikor tepkilerinin engellenmesine de katkıda bulunur (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2022).

Merkezi tolerans süreci kemik iliğinde gerçekleşir. Bu aşamada, hücre zarlarına

bağlı ya da katı yüzeylerle ilişkili kendi antijenlerini tanıyan gelişen B hücreleri klonal silinmeye maruz kalarak elimine edilir. Eğer gelişmekte olan B hücreleri çözünür bir antijenle karşılaşırsa, bu hücreler anerji durumuna girer. Bu durumdaki hücreler, uygun koşullarda yeniden aktive olabilir (Dembic, 2015). BCR (B hücre reseptörü) sinyal gücünün yanı sıra öz antijenin çözünür ya da zar bağlı olması gibi fiziksel yapısı, bu seçim sürecini düzenleyen kritik faktörlerdir. Daha güçlü BCR sinyalleri, klonal silinme yoluyla B hücrelerinin apoptoza yönelmesine neden olurken (Singh, Dubey, & Pinkhasov, 2013), daha zayıf sinyaller B hücrelerinde fonksiyonel yanıtsızlık, yani anerji oluşumuna yol açar. Anerjik B hücreleri, genellikle erken hücre ölümüne daha duyarlıdır.

Bazı B hücrelerinde, rekombinasyon aktivatör genleri (RAG) yeniden eksprese edilir ve reseptör düzenleme adı verilen bir süreçle kendi kendine reaktif reseptörler, oto-reaktif olmayan reseptörlerle değiştirilir (Singh, Dubey, & Pinkhasov, 2013). Eğer reseptör düzenleme oto-reaktiviteyi engelleyemezse, bu olgunlaşmamış B hücreleri apoptoz yoluyla elimine edilir. Eğer kendi antijenlerine karşı zayıf bir bağlanma gerçekleşirse, bu durum hücre ölümünden ziyade fonksiyonel inaktivasyona, yani anerjiye yol açabilir (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

Periferik tolerans, yeni oluşmuş potansiyel olarak oto-reaktif B hücrelerinin, olgun naif lenfositlere dönüşmeleri sırasında devreye girer. Periferde kendi antijenleriyle karşılaşan B hücrelerinin, mitokondriyal yolak aracılığıyla apoptoza daha yatkın hale gelmesi, hayatta kalma oranlarını düşürür (Wardemann, 2003). Kemik iliğinden çıkarak periferik lenfoid organlara göç eden B hücreleri, hayatta kalmak için bir dizi kontrol noktasından geçmek zorundadır (Jacobi & Diamond, 2005). Ancak bu süreçte self-antijenlerle karşılaşan B hücrelerinin lenfoid foliküllere göç etme yeteneği azalır (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

Lenfoid foliküllerden ayrı kalan B hücreleri gerekli yaşam sinyallerinden mahrum kalarak apoptoz geçirir. Periferik dokularda, anerjik B hücreleri antijene özgü yardımcı T hücreleriyle etkileşime girdiğinde, bu hücreler T hücreleri üzerinde eksprese edilen Fas ligandı (FasL) aracılığıyla, Fas-FasL etkileşimi sonucu apoptoza uğrayabilir (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2007).

2.2.6. Otoimmünitenin patogenezi

Öz (self) antijenlere karşı bağışıklık sistemi tarafından oluşturulan yanıt, otoimmünite olarak tanımlanır ve gelişmiş toplumlarda prevalansı %5 ila %10 arasında değişmektedir. Ancak patojenik olan otoimmün hastalıklar bu orana kıyasla daha nadir görülür. Otoimmün hastalıklar, yalnızca bir veya birkaç organı etkileyebileceği gibi, geniş çaplı doku hasarı ve klinik belirtiler ile kendini gösteren sistemik bir seyir de izleyebilir. Otoimmün hastalıklarda meydana gelen doku hasarının iki temel mekanizması bulunmaktadır. İlk mekanizma, öz antijenlere karşı antikorların üretilmesi; ikinci mekanizma ise, öz antijenlere yanıt veren otoreaktif T hücrelerinin oluşumudur (Abbas ve ark., 2022).

Otoimmünitenin gelişmesinde etkili olan faktörler arasında, genetik yatkınlık (özellikle otoimmünite ile ilişkili genlerin kalıtımı) ve enfeksiyonlar gibi çevresel tetikleyiciler yer alır. Bu faktörlerin, öz-antijenlere yanıt veren T ve B lenfositlerinin uzun süre hayatta kalmasına katkı sağladığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, doku hasarına ve iltihaplanmaya esas olarak çevresel tetikleyiciler neden olur. Bu çevresel faktörler, otoimmün hastalıklarda etkili olan efektör T hücreleri ve otoantikorların oluşumuyla sonuçlanan öz-reaktif lenfositlerin aktivasyonunda önemli bir rol oynar (Abbas ve ark., 2022).

2.2.7. Genetik faktörler

Otoimmün hastalıkların büyük bir kısmı kalıtsal özelliklerle ilişkilidir ve bu bağlamda en güçlü katkıyı MHC (major histocompatibility complex) genleri sağlar. Bu genetik ilişki, bir otoimmün hastalığın belirli bir HLA (human leukocyte antigen) alelini taşıyan bireylerde taşıyanlara göre daha sık görülme oranı veya rölatif risk ile ifade edilmektedir. Sağlıklı bireylerde de polimorfik gen varyasyonları mevcuttur, ancak bu genlerin her birinin otoimmünite gelişimindeki katkısı genellikle küçüktür. Otoimmün hastalıkların oluşabilmesi için birden fazla risk allelinin bir arada bulunması gerekmektedir.

İnsan ve hayvanlardaki birçok otoimmün hastalık, MHC genleri ve özellikle HLA allelleri ile ilişkilidir. Belirli HLA allelleri taşıyan bireylerde, bu allelleri taşımayanlara göre birçok otoimmün hastalığın insidansı çok daha yüksektir. Bu ilişki, özellikle HLA-DR ve HLA-DQ gibi MHC sınıf II molekülleri tarafından kodlanan HLA genleri

için belirgindir. HLA allelleri ve otoimmün hastalıklar arasındaki bu bağ, T hücrelerinin bu hastalıklardaki kritik rolünün erken kanıtlarından biri olarak kabul edilmektedir.

MHC sınıf II molekülleri, CD4+ T hücrelerini aktive ederek hem hücresel hem de hümoral bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu moleküller, HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP genleri tarafından kodlanır ve farklı antijenleri bağlama yeteneklerine sahiptir. Belirli HLA allelleri, öz-antijenleri bağlayarak CD4+ T hücrelerini yanlış bir şekilde aktive edebilir ve bu da otoimmün yanıtları tetikleyebilir.

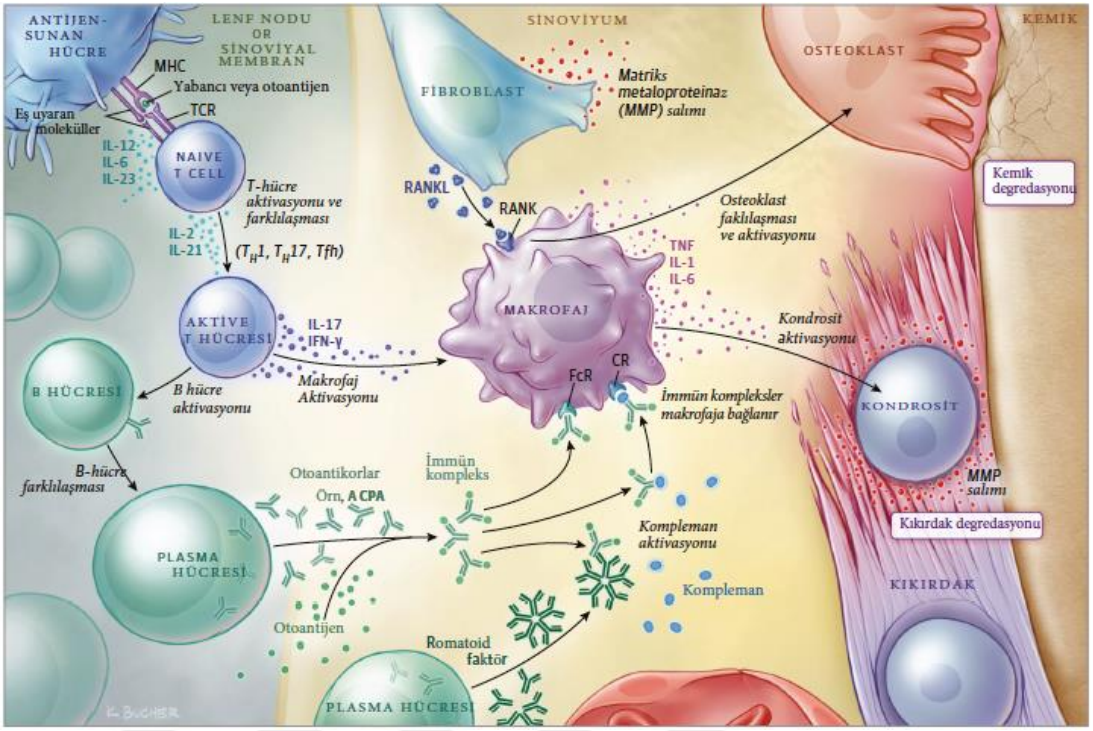
Bunun yanı sıra, bazı otoimmün hastalıklarda HLA-dışı (non-HLA) genler de rol oynar. Bu genler, öz tolerans mekanizmalarının yetersiz işlemesine katkıda bulunabilir ve otoimmünitenin gelişimini destekleyebilir (Abbas ve ark., 2022).

2.3. Romatoid Artrit (RA)

Romatoid artrit (RA), popülasyonun yaklaşık %0.5-1.0'ını etkileyen sistemik kronik inflamatuar bir hastalıktır (Bodkhe, Balakrishnan & Taneja, 2019). Çoğu hastada sinovyum, kıkırdak ve kemikte bulunan self antijenleri hedef alan hastalık nedeniyle eklem yıkımına ve fonksiyonel yetersizliğe yol açar (Halpern, Cifaldi & Kvien, 2009). RA patofizyolojisine ilişkin önemli bilgiler, çeşitli enflamatuar yolların, değişmiş bir bağışıklık sistemine ve hastalığın başlangıcına yol açtığını göstermektedir (Burger & Dayer, 2002).

2.3.1. Romatoid artrit patolojisi

RA, T hücreleri, B hücreleri ve monositlerle birden fazla eklemde sinovyal zarın infiltrasyonu ile karakterizedir. Bu süreç, endotel hücrelerinin aktivasyonuyla başlar; neovaskülarizasyon (yeni kan damarlarının büyümesi) RA sinovitinin bir diğer ayırt edici özelliğidir. Sinovyal fibroblast benzeri ve makrofaj benzeri hücrelerin genişlemesi, hiperplastik bir sinovyal astar tabakasına yol açar. Genellikle "pannus" olarak adlandırılan bu genişlemiş sinovyal zar, kıkırdak-kemik birleşimindeki periartiküler kemiği istila eder ve kemik erozyonlarına ve kıkırdak bozulmasına yol açar (Aletaha & Smolen, 2018) (Şekil 1).



Şekil 1. Romatoid artritin immünopatogenezi (Aletaha & Smolen, 2018 türkçeye çevrilmiştir).

Nükleer faktör κB liganının reseptör aktivatörü (RANKL), prostaglandinler ve matriks metalloproteinazlar gibi moleküller, tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin (IL)-6 dahil olmak üzere proinflamatuar sitokinler tarafından indüklenir ve ağrı ve şişlik ve kıkırdak ve kemik degradasyonu dahil olmak üzere hastalığın belirti ve semptomlarına aracılık eder (Wallach, 2016). RANKL, TNF ve IL-6 tarafından uyarım, sinovyal membran içinde osteoklastlar üretir ve kemik hasarını teşvik eder. Bu moleküler ve hücresel olaylar klinik hastalık ekspresyonuyla sonuçlanır. Eklem hasarının ilerlemesi, eklem şişmesiyle içsel olarak ilişkilidir (Aletaha & Smolen 2011).

RA' in nedeni bilinmemektedir. Ancak, genetik ve çevresel faktörler RA'ya katkıda bulunur. Birçok gen lokusu RA ile ilişkilidir (Şekil2). Ancak, HLA-DRB1*01 ve HLA-DRB1*04 gibi belirli HLA sınıf II antijenleri, T lenfositlere antijen sunumundan sorumlu bölgedeki 5 amino asitlik bir uzantı olan "paylaşılan" epitopu içerir ve RA ile en yakın ilişkilidir (Poorana Pushkalai & Gayathiri, 2024). Daha zayıf ilişkilere sahip genler (şekil 2) da, özellikle gen-gen ve gen-çevre etkileşimleri yoluyla katkıda bulunabilir. RA için çevresel risk faktörleri, sigara içme, periodontitis ve bağırsak, ağız ve akciğer mikrobiyomunun özellikleri ile viral enfeksiyonlardır. Mikrobiyom açısından, erken RA'da gastrointestinal sistemde çoğalan Prevotella türleri ve periodontitis ile ilişkili olan Porphyromonas gingivalis patogenezde rol

oynayabilir (Manfredo Vieira ve ark 2018). Yeni veriler, bakterilerin bağırsaktan dokulara taşınarak inflamasyona ve otoimmüniteye neden olabileceğini düşündürmektedir. Genetik ve RA'lı hastaların HLA-DR moleküllerinin RA'da bulunan komensal bakteri türlerinin proteinlerindeki epitoplarla dizi homologisi gösteren otoantijen peptitleri sunduğuna dair son gözlemlere dayanarak, çevrenin belirgin olduğu ortaya çıkmıştır (Alam, Kim & Choi 2014). Otoantijenlerin amino asit dizileri ile bakteriyel veya viral proteinler arasında benzerlikler tanımlanmıştır. Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu da suçlanmıştır ve bu durum, transkripsiyon faktörü EB nükleer antijen 2'nin (EBNA2) RA ve diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili genetik lokuslara tercihen bağlandığına dair son gözlemlerle daha da desteklenmiştir (Poorana Pushkalai, & Gayathiri, 2024).

Romatoid Artrit Epidemiyolojisi: **Başlıca Genetik ve Çevresel Faktörler**	
Prevalans:	≈%0.5
Genetik İlişkiler:	HLA-DRB1
T hücre fonksiyonu:	PTPN22 / CTLA4 / CCR6
B hücreleri:	CD40
Diğer genler:	MMP9 / PADI4 / CCR5
Sitokinler/Reseptörler/Sinyal:	TNF / OPG /TRAF1 / IL2RA / IL2RB / IRF4 / IRF5 / TNFAIP3 / GATA3 / REL
Çevresel Faktörler:	*Prevotella copri* / Virüsler (EBV, Epstein-Barr Virüsü) / Tütün kullanımı /Silika

Şekil 2. Romatoid artrit epidemiyolojisi: Başlıca genetik ve çevresel faktörler (Aletaha & Smolen, 2018 türkçeye çevrilmiştir).

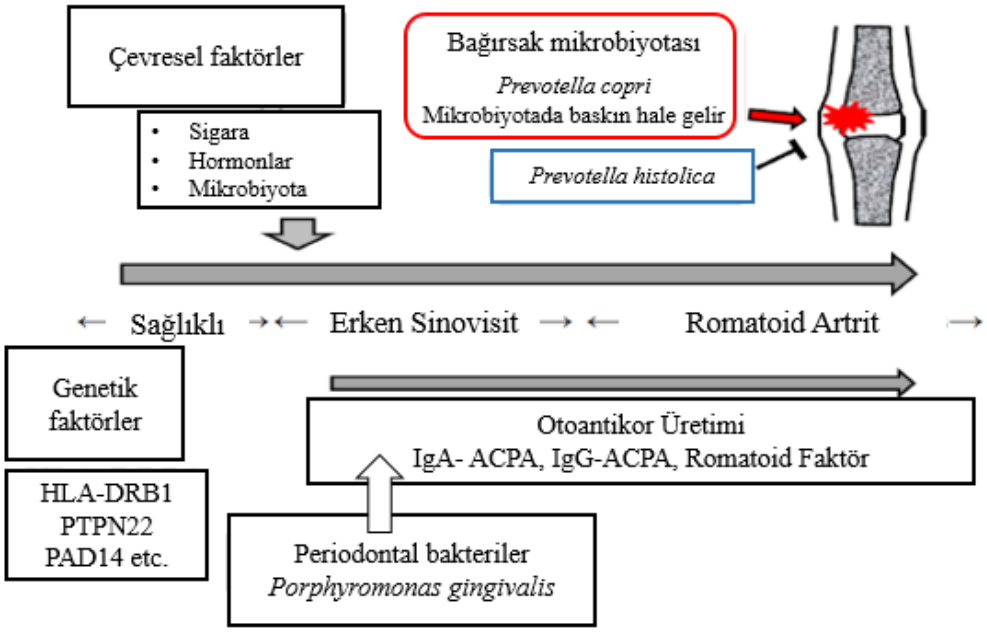
2.3.2. Romatoid artrit ve mikrobiyota ilişkisi

Son zamanlarda araştırmacılar, RA gelişimini etkileyen çevresel bir ajan olduğu düşünülen bağırsak mikrobiyotasına odaklanmıştır (Maeda, & Takeda, 2017). Büyük araştırmalar genetik faktörlere odaklanırken, konakçı mikrobiyotanın ve özellikle bağırsak mikrobiyotasının RA'nın gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığına dair artan bir farkındalık vardır. Bağırsakla ilişkili lenfoid doku ile uyum içinde olan bağırsak mikrobiyomu, bağışıklık dengesinin korunmasında rol alır ve konağın sağlık

durumunun bir göstergesi olarak işlev görür (Mazmanian, Liu, Tzianabos & Kasper, 2005 – Ivanov ve ark.,2009).

Bu etkileşimin bozulması, sistemik bağışıklığın yanı sıra mukozal bağışıklığı da etkileyebilir ve çeşitli enflamatuvar ve otoimmün hastalıkları tetikleyebilir (Marietta ve ark., 2018). Bugüne kadar yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyomunun konakçı bağışıklık sistemi ve hastalıklarla derin bir ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur (Marietta ve ark., 2018). Mikrobiyota ile artrit patolojisi arasında bağlantı kuran ilk rapor 1970'lerin sonunda yayınlanmıştır. Çalışma, mikropsuz ortamda yetiştirilmiş sıçanlarda %100 insidansla ciddi artrit geliştiğini, oysa geleneksel yöntemlerle yetiştirilen sıçanlarda sadece %20'lik bir insidansla daha az şiddetli artrit geliştiğini göstermiştir (Kohashi ve ark., 1979). Sağlıklı deneklerle karşılaştırıldığında RA'lı kişilerde düşük çeşitlilikte ve disbiyotik bağırsak mikrobiyotasını vurgulayan çok az çalışma yapılmıştır (Scher ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada, sağlıklı denekler ile yeni başlayan tedavi edilmemiş RA hastaları arasındaki mikrobiyal kompozisyonu karşılaştırılmış ve RA hastalarında düşük Bacteroides seviyeleri ile *Prevotella copri* bolluğunun arttığını gösterilmiştir ve bu da P. copri'nin patojenik olabileceğini düşündürmüştür (Scher & Abramson, 2013). Başka bir çalışmada ise insan üst bağırsağından izole edilen prevotella cinsinin yeni bir türü olan Prevotella histicola'nın insanlaştırılmış HLA-DQ farelerinde artriti baskıladığını gösterilmiştir (Pianta ve ark., 2017). Ayrıca periodontal hastalıkların önemli bir patojenik bakterisi olan *Porphyromonas gingivalisin*, RA gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür, çünkü bu bakteri bir peptidilarginin deiminaz eksprese eden bilinen tek patojendir ve Anti-siklik sitrüline peptit antikoru (Anti-cyclic citrullinated peptide antibody ACPA) ile ilişkili olabilir (Lappin ve ark., 2013). RA'lı hastalardaki mevcut verilere ve hayvan artrit modellerine dayanarak, değiştirilmiş bağırsak mikrobiyotasının hastalık şiddetinde kritik bir rolü olduğu gösterilmektedir (Khanna, Jaiswal & Gupta, 2017).



Şekil 3. Romatoid artrit gelişiminde çevresel faktörler ve mikrobiyal popülasyonun RA gelişimine etkisi. *Prevotella copri*'nin baskın olduğu mikrobiyota, artrit gelişimine katkıda bulunabilirken, P. histicola artrit başlangıcını baskılar (Maeda, & Takeda, 2017 türkçeye çevrilmiştir).

2.3.4. Mikrobiyota temelli terapiler ve gelecek perspektifleri

Mikrobiyota temelli tedaviler, probiyotikler, prebiyotikler, diyet değişiklikleri ve fekal mikrobiyom nakli (FMT) gibi farklı stratejilerle yapılabilir. Bu tedavi yöntemlerinin RA tedavisindeki etkinliği, henüz başlangıç aşamasında olsa da, bu alanda yapılan çalışmalar umut vericidir.

- Probiyotikler ve Prebiyotikler: Probiyotikler, bağırsakta yaşayan yararlı bakteriler olup, mikrobiyota dengesini düzenlemeye yardımcı olabilir. RA hastalarında yapılan bazı çalışmalar, probiyotiklerin, özellikle Lactobacillus ve Bifidobacterium türlerinin, bağırsak florasını iyileştirdiğini ve inflamasyonu azalttığını göstermektedir. Bu bakteriler, bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici etkiler yaparak, RA'nın patogenezindeki rol oynayan proinflamatuar sitokinlerin üretimini engelleyebilir (Aqaeinezhad Rudbane ve ark., 2018). Prebiyotikler ise, probiyotik bakterilerin büyümesini teşvik eden besin maddeleridir ve bunlar da mikrobiyomun sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine yardımcı olabilir.

- Fekal Mikrobiyom Nakli (FMT): Fekal mikrobiyom nakli (FMT), bağırsak mikrobiyotasını değiştirmek amacıyla bir kişiden alınan sağlıklı dışkı örneğinin, hasta bireye verilmesi işlemidir. RA tedavisinde FMT'nin potansiyeli üzerinde yapılan erken dönem çalışmalar, bu tedavi yönteminin bağışıklık tepkilerini dengeleme ve inflamasyonu azaltma açısından umut verici sonuçlar verdiğini göstermektedir (Seida, Shawaf & Mahroum, 2024). FMT, özellikle antibiyotiklere dirençli mikrobiyom değişikliklerini düzeltmeye ve sistemik inflamasyonu azaltmaya yardımcı olabilir.

2.4. Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu (FMT)

FMT, disbiyoz ile ilişkili bir hastalığı olan bir kişide normal bağırsak mikrobiyotası ve patojen kolonizasyon direnci ile ilişkili mikrobiyal çeşitliliği yeniden oluşturmak için kullanılan yeni ortaya çıkan bir tedavidir. Dışkı materyalinin sağlıklı bir kişiden hasta bir kişiye transferini içerir (Schepici, Silvestro, Bramanti & Mazzon, 2019). Sağlıklı bir kişiden hasta bir kişiye dışkı transferi veteriner hekimliğinde 17. yüzyıla kadar dayanmaktadır (Choi & Cho, 2016). Bununla birlikte, bu uygulamanın gıda zehirlenmesi veya şiddetli ishali olan hastalara ağızdan insan dışkısı süspansiyonları verildiği 4. yüzyıl Çin'ine kadar uzanan kanıtlar vardır (Choi & Cho, 2016). Fekal mikrobiyota transferi (FMT), gastrointestinal bozuklukları hafifletmek için yaygın olarak kullanılan probiyotiklere benzer. Ancak probiyotiklerin aksine, FMT, yeni bir mikrobiyota oluşturan bağırsağın kalıcı kolonizasyonuyla sonuçlanır (Pilla, & Suchodolski, 2020). Bağırsak mikrobiyotasının kritik üyelerinin bağışıklık gelişimini ve otoimmün hastalıkların gelişimi ile ilişkili fizyolojik tepkileri modüle ettiği mekanizmalar hakkında daha fazla bilgi edinmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Rodríguez ve ark., 2015).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu yüksek lisans tez çalışması, **Bursa Uludağ Üniversitesi** Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 11.04.2023 tarihli 2023-06/05 no' lu karar sonucu alınmış izin sonrasında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Gereçler

Çalışmada kullanılan maddeler;

Amoxicillin, Bosthenchem, ABD

Vancomycin hydrochloride, Bosthenchem, ABD

Neofleks %0,9 İzotonik sodium klorür, TTS, Türkiye

Kolajen Sigma C7806 10mg

Compleate freud adjuvant CFA, Mycobacterium tuberculosis, heat killed and dried; Sigma-Aldrich Co. LLC., cat. no: F5881-6X10ML

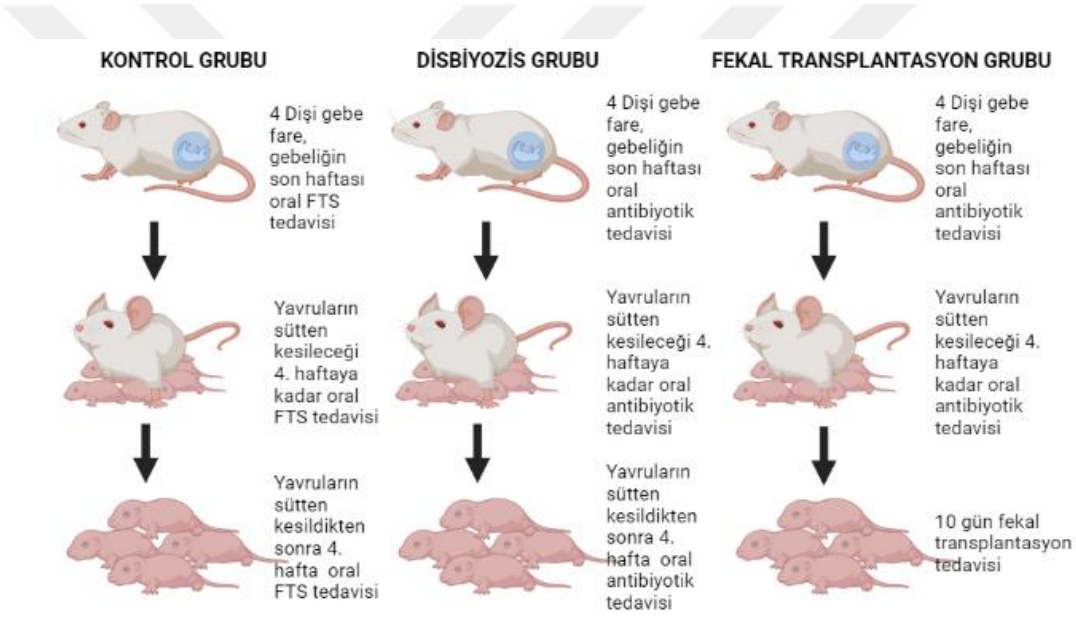
3.2. Yöntem

3.2.1.Hayvan seçimi ve grupların oluşturulması

Çalışmamızda 2-3 aylık 12 adet gebe dişi Balb/c fare kullanıldı. Gebe fareler her grupta 4 hayvan olacak şekilde kontrol, disbiyozis ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) grubu olarak ayrıldı. Disbiyozis ve FMT grubundaki gebe farelere bağırsak mikrobiyotasını değiştirmek için gebeliğin son haftasından itibaren doğan yavruların sütten kesileceği 4. haftaya kadar toplam 5 hafta süreyle 40 mg/kg amoksisilin ve 30 mg/kg vankomisin karışımı hayvanların içeceği suya katılarak her gün oral yolla uygulandı. Bu dozu yakalamak için satın alınan amoxsisilin ve vankomisin ayrı ayrı 2L suda çözdürüldü ve 1 farenin günlük tüketimi olan amoxsisilin 320 µl, vankomisin ise 1,2 mL olarak belirlendi. 1 farenin günlük su tüketimi 3-5 mL olması gerektiğinden belirlenen antibiyotik miktarları su ile 5 mL' ye tamamlandı ve her gün antibiyotik içeren sular yenilendi. Sütten kesilme zamanı olan doğumdan sonraki 4. haftada yeni doğan erkek hayvanlar; kontrol grubundan doğanlar kontrol, disbiyozis grubundan doğanlar disbiyozis grubu ve FMT grubundan doğanlar FMT grubu olarak ayrıldı. Disbiyozis ve FMT grubundaki yavru hayvanlara, sütten ayrıldıktan sonra 4 hafta süre ile 40 mg/kg amoksisilin 30 mg/kg vankomisin karışımı hayvanların içeceği suya katılarak oral yolla uygulandı. Böylece maternal olarak 1 hafta ve doğumdan sonra da 8 hafta antibiyotik tedavisi uygulanarak disbiyozis ve FMT grubundaki hayvanlarda disbiyozis oluşturuldu. Disbiyozis oluşturulduktan

sonra, FMT grubundaki erkek farelere, antibiyotiklerin yarılanma ömrü göz önüne alınarak son antibiyotik tedavisinden 1 gün sonra FMT tedavisine başlandı ve 10 gün boyunca devam edildi, disbiyozis grubundaki erkek farelere ise bu süre boyunca herhangi bir tedavi uygulanmadı (Şekil 4).

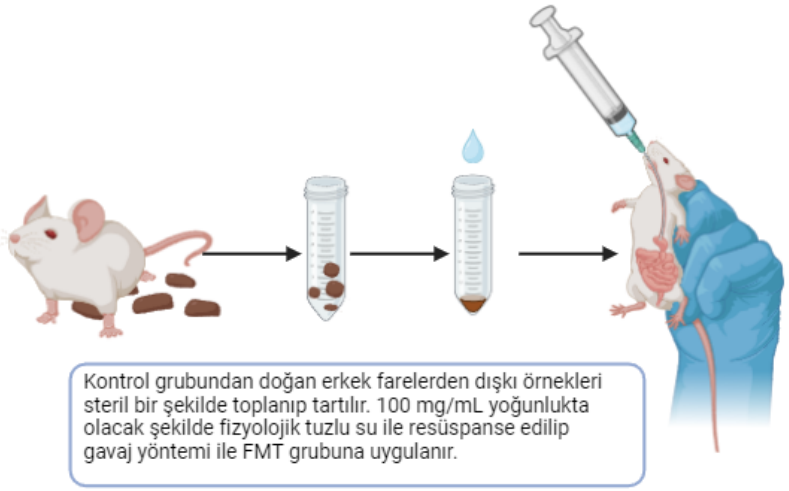
Deney boyunca tüm gebe fareler ve gebe farelerden doğan yavrular dezenfekte edilmiş IVC kafes içinde uygun yaşam koşulları sağlanarak (12 saat aydınlık/karanlık 22-24 ^{0}C sıcaklık ve %50-60 nem), bakıldı. Hem gebe hayvanlara hem de doğan yavrulara *ad libitum* olarak steril pelet yem (PTF fare yemi Yem Araştırma Deney Ticaret Limited Şirketi) ve otoklavlanmış su verildi ve altlık materyali de kontaminasyonu önlemek için otoklavlandı.



Şekil 4. Deney prosedürünün şematik gösterimi.

3.2.2. FMT uygulanması

FMT için disbiyozis ve FMT grubundaki hayvanlarla aynı yaş grubunda olan kontrol grubundaki erkek hayvanlardan steril bir şekilde her gün taze olarak toplanan dışkı peletleri kullanıldı. Dışkı peletleri topanırken ilk 3 pelet atılıp 4. ve sonrasındaki dışkı peletleri DNA/RNA free steril tüplere toplandı. Kontrol grubundaki tüm erkek hayvanlardan toplanan dışkı örnekleri birleştirildi ve 100 mg/ml oranında steril fizyolojik tuzlu su çözeltisi içinde yeniden süspanse edildi. Dışkı süspansiyonu filtre edilerek FMT grubunda bulunan farelere 10 gün boyunca günde bir kez 500 µl gavaj kullanılarak oral olarak uygulandı (Şekil 5).



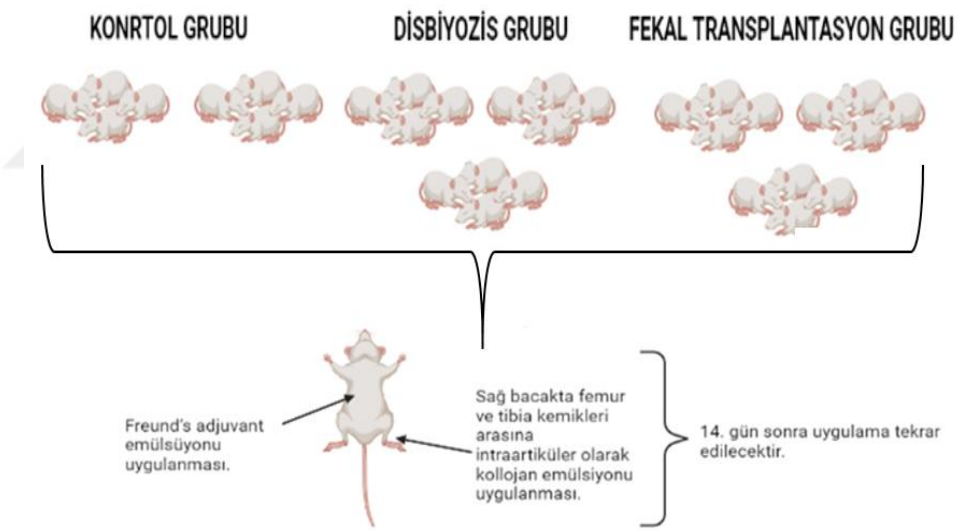
Şekil 5. FMT yöntemi. (biorender kullanılarak oluşturulmuştur.)

3.2.3. Mikrobiyal popülasyonun NGS (yeni nesil sekanslama) yöntemi ile belirlenmesi

Disbiyozis oluşturulup oluşturulmadığını ve FMT'nin etkisini belirlemek için bağırsak mikrobiyal popülasyonun sekanslanarak bakteriyel ve arkeal profilin belirlenmesi amacıyla kontrol, disbiyozis ve FMT gurubundaki hayvanlardan dışkı örnekleri toplandı. Dışkı örnekleri toplanırken ilk 3 dışkı örneği atılıp 4. dışkı örneği DNA/RNA free steril tüplere toplandı. Gruplara göre dışkı örnekleri birleştirilerek 3 örnek olacak şekilde shutgun yöntemi ile bakteriyel ve arkeal profil belirlendi. Bu amaçla yeni nesil sekanslama yöntemi olan shutgun için Sapiens Genetik Tanı A.Ş. İstanbul' danhizmet alımı yapıldı. Özetle Shutgun yönteminde; DNA materyalinin kütüphane hazırlığında, Illumina DNA Prep kiti (Illumina, ABD, #20060059) kullanıldı. Kütüphane hazırlık sürecinde sırasıyla, fragmentasyon, index/barkod dizilerinin eklenmesi, amplifikasyon ve pürifikasyon işlemleri üretici firmanın kit yönergeleri takip edilerek gerçekleştirildi. İlk fragmentasyon basamağında, modifiye edilmiş transpozaz enzimleri ile rasgele parçalanmakta ve adaptörler eklendi. Çalışma sonrasında, hazırlanan kütüphanenin uzunluk dağılımı 2100 Bioanalyzer (Agilent, ABD, #G2939BA) kullanılarak ölçüldü. Dizileme: Dizileme çalışmasında Illumina NovaSeq 6000 yeni nesil dizileme platformu kullanıldı. Bu basamakta 150 bp uzunlukta çift yönlü (paired-end) okuma elde edilmesi planladı. Kütüphane ölçümü, seyreltme ve yükleme işlemleri, üretici firmanın ilgili yönergeleri takip edilerek gerçekleşti.

3.2.4. Farelerde kolajen ile indüklenen artrit (CIA) modeli oluşturulması

Mikrobiyal değişimler gerçekleştirildikten sonra farelerde kolajen ile indüklenen artrit (CIA) modeli daha önce Balb/c farelerde tanımlanan metoda uygun olarak oluşturuldu (Guvenç vd., 2018) Tanımlanan metoda göre, Balb/c farelerde CIA oluşturmak için, kollajen emülsiyonu (Sigma-Aldrich Co. LLC., cat. no: C7806-10 MG) 10 µl hacminde (100 µg sığır tip II kollajen) hayvanın sağ bacağına femur ve tibia kemikleri arasına intraartiküler olarak enjekte edildi. Hemen ardından, 100 µl Complete Freund's adjuvant (CFA, Mycobacterium tuberculosis) (CFA, Mycobacterium tuberculosis, heat killed and dried; Sigma-Aldrich Co. LLC., cat. no: F5881-6X10ML) emülsiyonu subkutan olarak enjkte edildi. On dört gün sonra aynı uygulama tekrar edildi. 21. güne kadar artrit gelişimi takibi yapıldı. (şekil 6). Her bir gruptaki hayvanların sağ bacaklarına artrit indüklenirken aynı hayvanın hiçbir uygulama yapılmayan sol bacağı grup içi kontrol olarak değerlendirildi.



Şekil 6. Mikrobiyota değişikliği oluşturulmuş farelerde (kontrol grubu, dizbiyoz grubu ve FMT grubu) kolajen ile indüklenen artrit modeli (CIA) oluşturulması. (biorender kullanılarak oluşturulmuştur)

3.2.4.1. Artritin klinik değerlendirilmesi

Hayvanların kontrol ve artrit indüklenmiş bacaklarının eklem kalınlığı ölçülerek ve eklem inflamasyonunun şiddeti skorlanarak artritin klinik olarak değerlendirilmesi gerçekleştirildi. Eklem kalınlığını ölçmek için kumpas kullanıldı (şekil 7). Eklem inflamasyon şiddeti skorlamasında Tablo 1' de görülen semptomlara göre değerlendirme yapıldı. (Ortmann & Shevach, 2001)

Tablo 1. Artrit klinik skorlama kriterleri

Semptom	Skor
Normal	0
Ayak bileğinde ve bazı pençelerde hafif kızarıklık şişlik	1
Ayak bileğinde ve bazı pençelerde orta kızarıklık şişlik	2
Ayak bileğinde ve tüm pençelerde şiddetli kızarıklık şişlik	3
Çoklu eklem tutulumu ile maksimum iltihaplı uzuv	4



Şekil 7. Artrit modelinde eklem ölçümleri (biorender kullanılarak oluşturulmuştur).

3.2.5. Histopatolojik incelemeler

Deney sonrasında, hayvanlar servikal dislokasyon ile uyutularak ötenazisi gerçekleştirildi ve artritin geliştiği sol eklem bölgesinden ve sağ kontrol ekleminden doku örnekleri toplandı. Koksafemoral eklem bölgesinden dezartiküle edilen bacaklar, derileri yüzüldükten sonra %10'luk nötral formalin solüsyonu içinde tespit edildi. Tespit işlemini takiben, %14'lük EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, pH 7,2) solüsyonu içerisinde kemik dokunun dekalsifikasyonu gerçekleştirildi ve dekalsifikasyon süresince her 3 günde bir EDTA solüsyonu yenilendi. Dekalsifiye edilen bacaklar, artikülasyon genu bölgesinden yatay düzleme dik açıyla kesilerek

kasetlere alınmış, rutin doku takip prosedüründen (70°C, 80°C, 90°C, Absolute alkol (100°) 1, Absolute alkol (100°) 2, ksilen 1, ksilen 2, parafin 1, parafin 2; her birinde 1'er saat) geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 μm kalınlığında alınan kesitler, Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi. Sinovyal dokuların histopatolojik muayenesinde, Tablo 2' de belirtilen kriterler dahilinde değerlendirmeler gerçekleştirildi.

Tablo 2. Histopatoloji değerlendirme kriterleri ve skorları.

	Semptom	**Skor**
Synovial hiperplazi	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4
Pannus oluşumu	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4
Synovial membranda infiltrasyonlar	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4
Neovaskülarizasyon	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4
Kıkırdak dokuda hiposelülarite	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4
Kıkırdak dokuda dejeneratif nekrotik değişiklikler ve fissür oluşumu	Hafif-şiddetli	1
	Hafif-orta şiddetli	2
	şiddetli	3
	Çok şiddetli	4

3.2.6. İstatistiksel analiz

Çalışmadaki tüm sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi bağımsız örneklem t-test ile yapıldı. Çalışmadaki tüm istatistiksel analizlerde p değerinin 0,05'den küçük olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

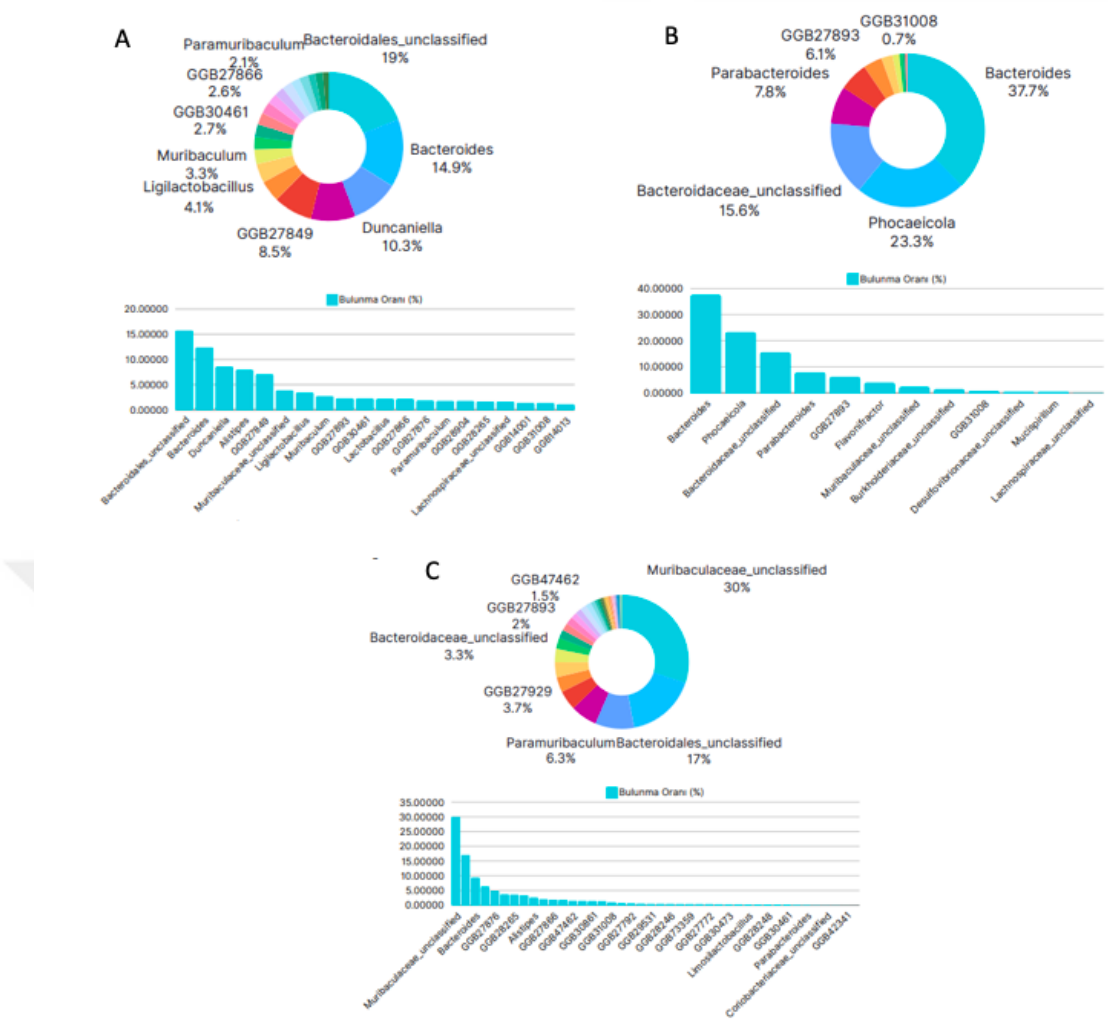
4. BULGULAR

4.1. Disbiyozis ve FMT' nin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri:

Artrit modelinin indüklenmesinden önce toplanan dışkı örneklerinden bağırsak mikrobiyotası değişikliğini göstermek için yapılan shutgun analizlerine göre bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğinin tanımında alfa çeşitliliği kullanıldı. Alfa çeşitliliği, ekolojik bir topluluğun mikrobiyal çeşitliliğini tanımlamak için kullanılan önemli bir göstergedir ve mikrobiyotadaki baskın türlerin çeşitliliklerini ifade eder. Alfa çeşitliliğin analizinde Shannon endeksi kullanılır. Shannon endeksi değeri sıfıra ne kadar yakınsa bağırsak florasının o kadar tekdüze çeşitliliğe sahip olduğunu ifade eder. Değer 0'dan ne kadar yüksekse mikrobiyal çeşitlilik o kadar fazladır. Deney gruplarımızda yapılan analizlerde alfa çeşitlilik oranı kontrol grubundaki hayvanlarda 4,02, disbiyozis grubundaki hayvanlarda 1,16 ve FMT grubundaki hayvanlarda 3,68 olarak belirlendi. (Şekil 8). Disbiyozis grubunda bariz bir şekilde bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliğin azaldığı, mikrobiyal popülasyonda daha az bakteri cinsine rastlandığı gözlendi (Şekil 9).



Şekil 8. Bağırsak mikrobiyotası çeşitlilik oranları



Şekil 9. Kontrol grubunun (A), Disbiyosiz oluşturulmuş grubun (B) ve FMT yapılan grubun sekans sonucunda görülen bakteriyel popülasyonun cins dağılım oranları

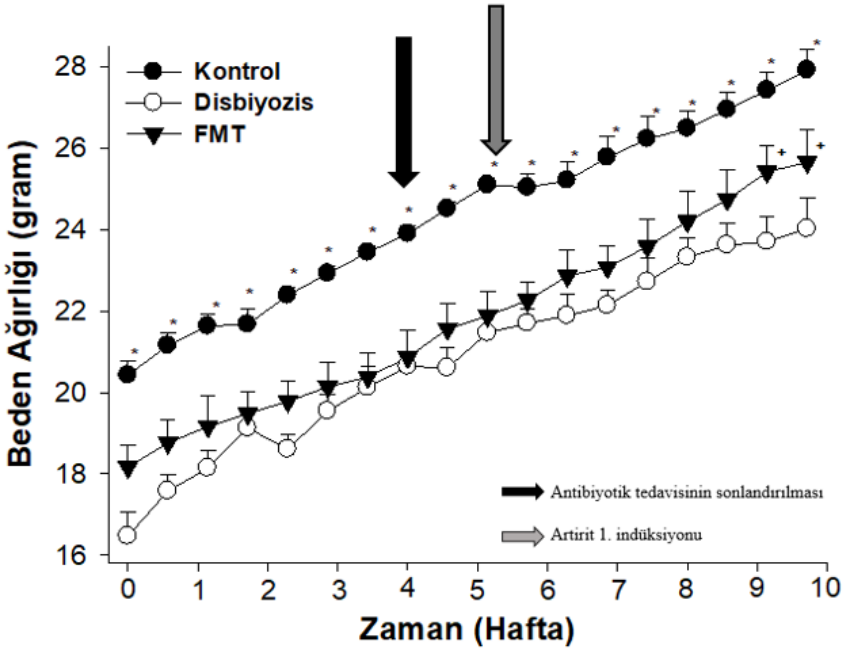
Ayrıca bağırsak mikrobiyotasında önemli iki bakteri şubesi bulunmaktadır. Bunlar Firmuctes ve Bacteroidetes şubeleridir. Bu şubelerin bulunma yüzdeleri ve oranları canlı organizmanın sağlığı için oldukça önemlidir. Disbiyozis grubumuzda bu önemli iki şubeden firmuctes yüzdesi azaldı bacteroidates bulunma yüzdesi önemli ölçüde arttı. FMT grubunda ise firmuctes yüzdesi az da olsa artarken bacteroidates şubesi yüzdesi disbiyozis grubuna göre bir miktar geriletildi (tablo 3). Ayrıca disbiyozis grubunda bağırsakta önemli polisakkaritlerin yağ asitlerine fermantasyonunda görev alan Lachnospiraceae sınıflandırılmamış üyelerinde düşüşler gözlendi. Tüm popülasyona baktığımızda kontrol grubunda 124 tür bakteri grubu tespit edilirken disbiyozis grubunda sadece 12 tür tespit edilmiştir. FMT grubunda ise bu sayı 109'a ulaşmıştır.

Tablo 3. Deney gruplarında bacteriodes ve firmuctes oranları

	Bacteroidetes şubesi bulunma oranı %	Firmuctes şubesi bulunma oranı %	Firmuctes/ Bacteroidetes
Kontrol grubu	76,26	16,03	23,22
Disbiyozis grubu	92,87	4,04	0,04
FMT grubu	88	4,4	0,05

4.2. Disbiyozis ve FMT' nin Beden Ağırlığı Kazanımı Üzerindeki Etkileri

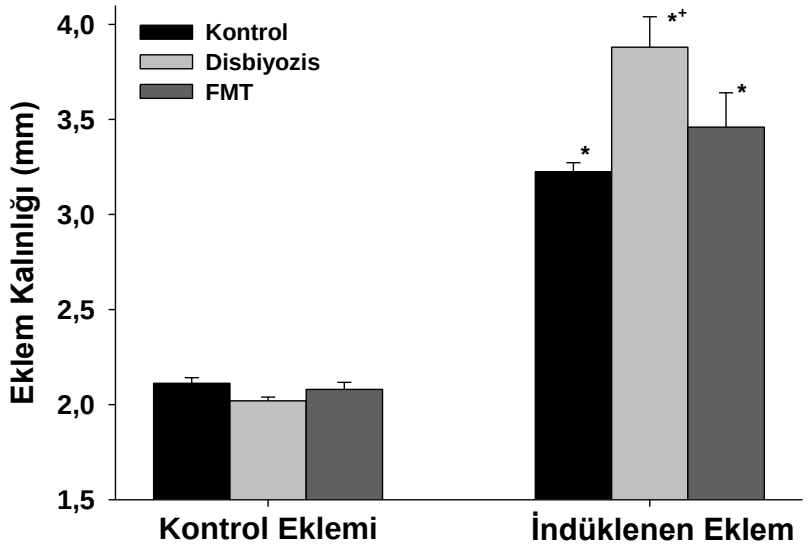
Disbiyozis oluşturmak için maternal olarak başlanan oral antibiyotik tedavisinin, Disbiyozis ve FMT grubundaki hayvanların sütten kesim esnasında (0. hafta) kontrol grubundaki hayvanlara göre daha az beden ağırlığı kazanımına sebep olduğu gözlendi (Şekil 10). Disbiyozis ve FMT grubundaki hayvanların sütten kesimden sonra gözlenen kilo kazanım farklarının sütten kesildikten sonraki 4 hafta boyunca devam eden antibiyotik tedavisi esnasında da devam ettiği gözlendi (Şekil 10). FMT grubundaki hayvanlara sütten kesimden sonra 4. haftada başlanan FMT tedavisi, FMT grubundaki hayvanların disbiyozis grubundaki hayvanlara göre beden ağırlığı kazanımlarının arttığı gözlendi (Şekil 10). Ayrıca tüm gruplarda artrit indüksiyonunda kilo kazanımında yavaşlama gözlendi (5,5. Hafta şekil 3).



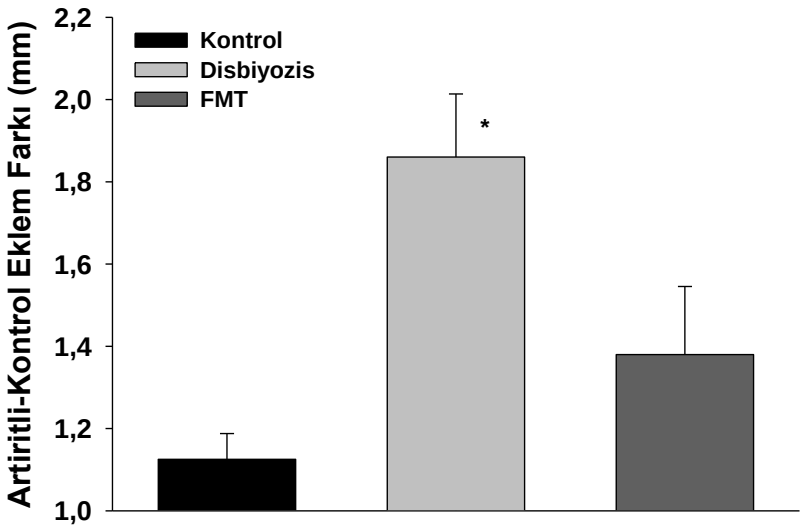
Şekil 10. Beden ağırlığı kazanımı grafiği

4.3. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Uygulanan Hayvanlarda Artrit İndüklenmesinin Karşılaştırılması

Disbiyozis ve FMT tedavileri sonrası tüm gruplarda kolajen ile indüklenen artrit modeli (CIA) oluşturuldu. Artritin 2. İndülemesinden 1 hafta sonrası 0. Gün olarak kabul edildi. Kontrol, disbiyozis ve FMT gruplarındaki tüm farelerin kontrol eklemleri (artrit içi enjeksiyon yapılmayan) ve artrit indüksiyonu gerçekleştirilen eklemleri kumpas yardımıyla ölçüldü. 0, 4, 8 ve 12. günlerde ölçüm tekrarlandı. Disbiyozis grubun eklem kalınlıklarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi. Ayrıca FMT grubunun eklem kalınlıklarının disbiyozis grubundan daha düşük olduğu gözlendi (Şekil 11). Eklem kalınlık sonuçlarımızda, artrit indüksiyonlu eklem kalınlığından kontrol eklem kalınlıklarını çıkartılarak aradaki fark gösterildi (Şekil 12). Tüm grupların eklem kalınlıklarının kıyaslanması için örnek görseller şekil 13' de gösterildi. Tüm gruplarda 0. Gün itibari ile eklem inflamasyon şiddetini skorladığımız, klinik skorlama gerçekleştirilmeye başlandı ve 4, 8 ve 12. Günlerde skorlama tekrarlandı. Tüm grupların klinik skor ortalamaları tablo 3' de ifade edildi.



Şekil 11. Kontrol, disbiyozis ve FMT gruplarının eklem kalınlıkları



Şekil 12. Kontrol, disbiyozis ve FMT gruplarının artritli-kontrol eklem farkları

Tablo 4. Kontrol, disbiyozis ve FMT grubunun klinik skorları

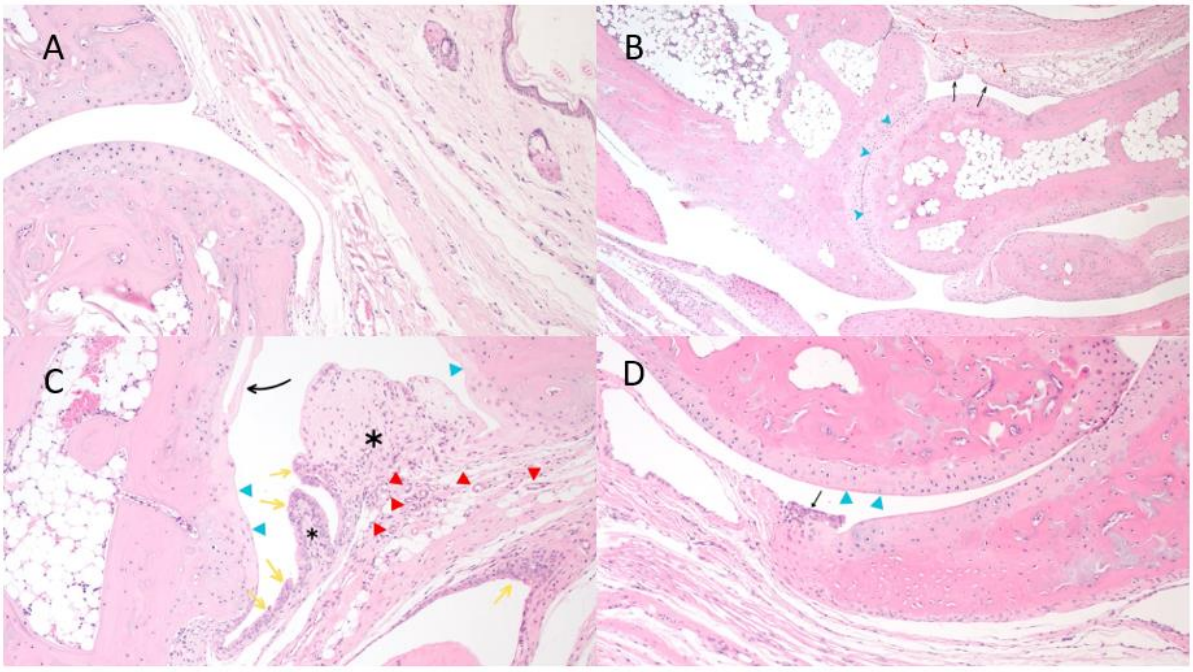
	Kontrol	**Disbiyosiz**	**FMT**
Klinik Skor	3,25 ± 0,25	3,00 ± 0,32	3,20 ± 0,20



Şekil 13. Kontrol (A), Disbiyozis (B) ve FMT (C) gruplarının eklem kalınlıklarının görsel hali. Tüm görsellerde sağ bacaklar artrit, sol bacaklar kontoldür.

4.4. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Sonrası Artrit ile İndüklenen Hayvanların Histopatoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kontrol, disbiyozis ve FMT gruplarındaki fareler servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edilip, nekropsi ve histopatolojik incelemeler gerçekleştirildi. Nekropside, sağ arka bacaklar romatoid artrit yönünden pozitif (Şekil 14-B)., sol arka bacaklar ise kontrol olarak değerlendirildi (Şekil 14-A). Kontrol grubunda Tibiotarsal eklem bölgesinde, kalkaneus, talus ve sentral tarsal kemiklerde hafif-orta derecede sinovyal hiperplazi ve pannus oluşumu dikkati çekti. Sinovyal membranda belirgin neovaskülarizasyon, subsinovyal alanlarda çoğunluğu mononükleer hücrelerden oluşan hücre infiltrasyonları gözlendi. Tarsal kemiklerin kıkırdak dokusunda kondrositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile bu bölgelerde fissür oluşumları ve osteolizise rastlandı. Dermiste çok sayıda, çoğunluğu mononükleer hücrelerden oluşan infiltrasyonların yanı sıra, deri altı dokulardan kas dokusuna kadar uzanan, oldukça şiddetli, aktif-kronik ve yer yer dev hücrelerin de bulunduğu mononükleer hücre infiltrasyonları dikkati çekti. (Şekil 14- B)



Şekil 14. Tüm grupların eklem görüntülerinin histapatolojisi A- kontrol eklemi, B- kontrol grubu artrit indüksiyonu yapılmış eklem, C- disbiyozis grubu artrit indüksiyonu yapılmış eklem, D- FMT grubu artrit indüksiyonu yapılmış eklem

Disbiyozis grubunda, tibiotarsal eklem bölgesinde, kalkaneus, talus ve sentral tarsal kemiklerde çok şiddetli sinovyal hiperplazi ve pannus oluşumu dikkat çekti. Sinovyal hücrelerin yer yer palizatlandığı ve sinovyal membranda belirgin neovaskülarizasyon gözlendi. Subsinovyal alanlarda çoğunluğu mononükleer hücrelerin oluşturduğu infiltrasyonlar mevcuttu. Bazı bölgelerde kondrositlerde dejeneratif değişiklikler kıkırdak dokuda meydana gelen nekrotik değişiklikler osteoliz ve superficial erozyonlar ile pannus periartiküler eklem yüzeyini kaplamıştı ve hiposelülarite dikkat çekmiştir. Eklem boşluğunun neredeyse tamamen gözden kaybolduğu görüldü (Şekil 14-C). Gruptaki bazı farelerde tarsal kıkırdak dokuda kondrositlerde dejeneratif ve nekrotik değişikliklerle birlikte osteolizis ve lize olan kemik dokuda periosteal kemik çıkıntıları saptandı. Bu bölgelerde ayrıca fissür oluşumları da görüldü.

FMT Grubunda Tibiotarsal eklem bölgesinde, kalkaneus, talus ve sentral tarsal kemiklerde hafif-orta derecede sinovyal hiperplazi ve pannus oluşumu dikkat çekti. Sinovyal membranda belirgin neovaskülarizasyon, subsinovyal alanlarda çoğunluğu mononükleer hücrelerden oluşan hücre infiltrasyonları gözlendi. Tarsal kemiklerin kıkırdak dokusunda kondrositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile bu bölgelerde fissür oluşumları ve osteolizise rastlandı. Dermiste çok sayıda, çoğunluğu mononükleer hücrelerden oluşan infiltrasyonların yanı sıra, deri altı dokulardan kas dokusuna kadar uzanan, oldukça şiddetli, aktif-kronik ve yer yer dev hücrelerin de bulunduğu mononükleer hücre infiltrasyonları dikkati çekti. Gruptaki bazı hayvanlarda eklem boşluğunun nispeten ortadan kalkmaya başladığı dikkat çekti. (Şekil 14-D).

Tüm gruplardaki hayvanlar sinoviyal hiperplazi, pannus oluşumu, sinoviyal membrandaki infiltrasyonlar, neovaskülarizasyon kıkırdak dokuda hiposelülarite ve kıkırdak dokuda dejeneratif ve nekrotif değişiklikler ve fissür oluşumu bakımından skorlanarak değerlendirildi. Skor ortalamaları tablo 4’ de gösterildi.

Tablo 5. CIA modeli oluşturulan farelerin histapatolojik skorlamaları

	Kontrol	**Disbiyosiz**	**FMT**
Synovial hiperplazi	2,50 ± 0,24	3,50± 0,58	3,25 ± 0,48
Pannus oluşumu	2,25 ± 0,24	3,25 ± 0,58	3,25 ± 0,48
Synovial membranda infiltrasyonlar	2,25 ± 0,37	3,00 ± 0,03	2,75 ± 0,29
Neovaskülarizasyon	3,00 ± 0,37	2,75 ± 0,33	2,00 ± 0,29
Kıkırdak dokuda hiposelülarite	3,00 ± 0,20	3,00 ± 0,33	2,75 ± 0,41
Kıkırdak dokuda dejeneratif nekrotik değişiklikler ve fissür oluşumu	3,50 ± 0,20	3,50 ± 0,33	3,00 ± 0,25

Skor 1: Hafif şiddetli, Skor 2: Hafif-orta şiddetli, Skor 3: Şiddetli, Skor 4: Çok şiddetli

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya çapında her 10 kişiden 1'inin (%7,6-9,4) otoimmün hastalıklara yakalandığı tahmin edilmektedir. Romatoid artrit bu otoimmün hastalıklardan biridir ve nüfusun%0,5-1' ini etkilemektedir. Şu anki tedavilerin tamamı immün sistemin anormal aktivasyonunu hedefleyen immünmodülatör ve immünsüpresör ilaçlardır. Bunlar hastalığın sonuçlarını etkin bir şekilde iyileştirebilseler de ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Spesifik ve tedavi edici değildirler. Bu noktada mikrobiyota ve immün sistem etkileşimi son zamanlarda oldukça ilgi görmektedir. Romatoid artrit hastalarından yapılan mikrobiyom analizlerinde bozulmuş mikrobiyal popülasyonla karşılaşmak konuyu doğru bir noktadan ele aldığımızın göstergesidir. Ayrıca mikrobiyotanın ve bağışıklık sisteminin gebeliğin son süreçlerinde ve doğumda yapılanmaya başlaması bize maternal başlangıçlı durumları ifade eder. Tüm bu konular ele alındığında mikrobiyotanın maternal başlangıçlı bozulması ve restore edilmeye çalışılmasının hastalık gelişiminde aydınatıcı olacağı düşüncesi ile bu çalışmayı gerçekleştirdik. Elde ettiğimiz bulguları konu başlıklarına göre tartışılmıştır.

5.1. Disbiyozis ve FMT' nin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri:

Deney gruplarımızda yapılan analizlerde alfa çeşitlilik oranı kontrol grubundaki hayvanlarda 4,02, disbiyozis grubundaki hayvanlarda 1,16 ve FMT grubundaki hayvanlarda 3,68 olarak belirlendi. Disbiyozis grubunda bariz bir şekilde bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliğin azaldığı, mikrobiyal popülasyonda daha az bakteri cinsine rastlandığı gözlendi. Ayrıca fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) yapılan grubumuzda daha fazla bakteri türü bulunduğu gözlendi. Elde ettiğimiz veriler literatürle tutarlıdır. Yapılan bir çalışmada (Shi ve ark., 2018) C57BL/6 farelerde ampisilinin bağırsak disbiyozisine etkisi incelenmiş ve bizim sonuçlarımıza paralel olarak ampisilin verilen grubun Shannon çeşitlilik değerleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük bulunmuş. Ayrıca ilgili çalışmada kontrol grubunun shannon endexi yaklaşık 4,3 olarak belirlenmiştir. Bu da bizim kontrol grubumuzun shannon endexi ile oldukça tutarlıdır. Aynı çalışmada gözlenen firmuctes şubesinin yüzdesindeki düşüş de bizim bulgularımızla tutarlıdır. Wistar sıçanlarda yapılan bir çalışmada (Tulstrup ve ark., 2015) farklı antibiyotiklerin etkileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bu çalışmada amoksisilin uygulanan sıçanlarda dışkıda gram

başına düşen bakteri miktarı daha fazla bulunmuştur. Ancak vankomisin tedavisinin sonuçları bizim çalışmamızla paralel olarak daha düşük bakteriyel popülasyonuna yol açmıştır. 2018 yılında yayınlanan bir derleme çalışmasında (Rosa, Brancaglion, Miyauchi-Tavares, Corsetti & Almeida, 2018) farklı antibiyotiklerin ve antibiyotik kokteyllerinin bakteriyel popülasyon, alfa/beta çeşitliliği, kilo kazanımı, kemik ağırlığı ve bazı hastalıklarla ilişkilerine değinilmişir. Ancak amoksisilin ve vankomisin antibiyotiklerinin birlikte kullanımına değinilmemiştir. Tüm kaynaklar gözden geçirildiğinde amoksisilin ve vakomisinin beraber kullanımının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Disbiyozisle ilgili çalışmaların çoğu direkt antibiyotik tedavisi ile ilişkilidir. Bizim projemizde maternal başlangıçlı antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Bu az sayıdaki çalışmalara baktığımızda yine vankomisin ve amoksisilin ayrı ayrı kullanımının olduğu görülmektedir. Gebelikte vankomisin tedavisi uygulanan bir çalışmada (Alhasan ve ark., 2023) balb/c farelerde belirgin bağırsak disbiyozu yaşandığını bakteriyel popülasyonun düşüşüyle gösterilmiştir. Ayrıca ilgili çalışmada antibiyotikle tedavi edilen annelerde ve yavrularda Lachnospiraceae sınıflandırılmamış üyelerinde azalmış oranlar gösterilmiştir. Lachnospiraceae cinsindeki düşüş çalışamamızdaki disbiyotik grupta da gözlendi. Lachnospiraceae, çeşitli polisakkaritleri kısa zincirli yağ asitlerine (bütirat, asetat) ve alkollere (etanol) fermente eden Eubacteriales takımındaki bir bakteri ailesidir. Balb-c farelerde maternal başlangıçlı antibiyotik kullanımını gösteren birkaç makalede (Nyangahu ve ark.,2018- Zhang, Cheng, Wang, Hao & Che, 2021) bulgularımızla doğru orantılı olarak bağırak mikrobiyotasında düşüş gözlemiştir. Ayrıca C57BL/6 farelerde yapılan bir çalışmada (Pietrasanta ve ark., 2024) gebelik sırasında antibiyotik tedavisinin yaşamın ilk haftasında *E.coli'nin* neden olduğu geç başlangıçlı neonatal sepsise (LOS) duyarlılığı artırdığını, anne sütü SIgA' sının emziren yenidoğanlara geçişini azalttığını ve yavruların mikrobiyotasını düzenlediği bulunmuştur. Ayrıca yenidoğan bağırsak bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını önemli ölçüde bozduğunu, etkilerin yenidoğan döneminden sonra da devam ettiği keşfedilmiştir. 2016 yılında yayınlanan bir derlemede (Francino, 2016) insanlarda antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini önemli ölçüde değiştirdiğinin vurgulanmıştır. Yapılan bir klinik çalışmada (Lankelma ve ark., 2017) erkeklere geniş spekturumlu antibiyotikler uygulanmıştır. Sonuçta yapılan mikrobiyal

analizde shannon endeksinin 4,9’ dan 1,8’ e düştüğü gözlenmiştir. Maternal disbiyozisi anlatan bir derlemede ise (Moya-Alvarez & Sansonetti, 2022) gebelikte disbiyozisin erken ve prematüre doğumu tetikleyebileceğine değinilmiştir. Bir başka derlemede ise (Miyoshi & Hisamatsu, 2022) gebelikteki bağırsak mikrobiyomunun çoğunlukla yavruya aktarıldığı ve antibiyotik maruziyetliyle bozulan mikrobiyomun da bu şekilde aktarılabileceği vurgulanmıştır.

2018 yılında yapılan bir klinik araştırmada (DeFilipp, Peled, Li, Mahabamunuge, Dagher, Slingerland, & Chen, 2018) FMT’ nin insan bağırsak mikrobiyal çeşitliliğini artırdığı ve güvenilir bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Benzer bir çalışmada (Seekatz ve ark., 2014) sonuçlarımızla paralel olarak FMT tedavisi yapılan bireylerde mikrobiyal popülasyonda ve shannon endeksinde artış gözlenmiştir. Yapılan birçok hayvan modelinde de çalışmamızla paralel olarak FMT’ nin bağırsak mikrobiyomunu yeniden şekillendirebildiği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2022- Tian ve ark., 2016).

5.2. Disbiyozis ve FMT’ nin Beden Ağırlığı Kazanımı Üzerindeki Etkileri

Bulgularımızda belirttiğimiz gibi bağırsak mikrobiyomunun maternal başlangıçlı disbiyozunun farelerde 0. hafta olarak sayılan sütten kesilme döneminde oldukça düşük ağırlığa sebep olduğu gözlenmiştir. Fareler doğumda ve sütten kesme döneminden önce tartılamamaktadır. Ancak sütten kesme dönemindeki kilo farkı bize düşük doğum ağırlıklı olduklarını yansıtmaktadır. C57Bl/6 farelerde yapılan bir çalışmada (Madany, Hughes & Ashwood, 2022) bulgularımıza parelel olarak doğum öncesi antibiyotik tedavisine başlanan farelerin düşük doğum ağırlıklı oldukları gösterilmiştir. Bu sonuçların aksine yine C57Bl/6 farelerde yapılan başka bir çalışmada (Rosa, Brancaglion, Miyauchi-Tavares, Corsetti & Almeida, 2018) maternal disbiyozun yavrularda vücut ağırlığına etkisi ile ilgili anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Balb/c farelerde yapılan bir araştırmada da (Ceylani, Jakubowska-Doğru, Gurbanov, Teker, & Gozen, 2018) antibiyotik ile tedavi edilen ve kontrol hayvanları arasında vücut ağırlığında bir fark gözlenmemiş. Klinik çalışmalara baktığımızda 2023 yılında yayınlanan bir derleme çalışmasında gebelikte antibiyotik maruziyeti çok düşük doğum ağırlığı ile ilişkilendirilmiştir (Morreale ve ark., 2023).

5.3. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Uygulanan Hayvanlarda Artrit İndüklenmesinin Karşılaştırılması

Disbiyozis grubun eklem kalınlıklarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi. Ayrıca FMT grubunun eklem kalınlıklarının disbiyozis grubundan daha düşük olduğu gözlendi. 2019 yılında yapılan vaka analizine dayalı bir çalışmada (Sultan ve ark., 2019) antibiyotik kullanan kişilerin kullanmayanlara göre romatoid artrit geliştirme olasılığının %60 daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada antibiyotik kullanım doz ve sıklığı da romatoid artrit ile ilişkilendirilmiştir. DBA1 erkek farelerde yapılan bir çalışmada ise (Dorożyńska, Majewska-Szczepanik, Marcińska, & Szczepanik, 2014) bulgularımızla paralel olarak antibiyotiklerle oluşturulan disbiyozu CIA' yı kötüleştirdiği gösterilmiştir. C57Bl/6 farelerde yapılan başka bir çalışmada da yine sütten kesilme döneminden sonra başlanan antibiyotik tedavisinin CIA' nin şiddetini arttırdığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2018). Maternal başlangıçlı antibiyotik tedavisi uygulanmış bir çalışma olmasa da bu sonuçlar bulgularımızla örtüşmektedir. Ayrıca insanlarda yapılan bir vaka çalışmasında yüksek artrit riskli hastalarda artrit öncesi bağırsak mikrobiyotasının değişmeye başladığı gösterilmiştir (Luo ve ark., 2023). Bu da zaten bozuk olan mikrobiyotanın artrit hazırlık sürecini hızlandıracağını düşündürmektedir. FMT tedavisi henüz önyargılı yaklaşılan bir tedavi olsa da romatoid artrit tedavisi için 2021 yılında yapılan bir vaka analizi mevcuttur (Dorożyńska, Majewska-Szczepanik, Marcińska, & Szczepanik, 2014). İlgili çalışmada FMT' nun artrit için olumlu etkileri çalışmamızda ortaya koyduğumuz sonuçlarla paraleldir.

5.4. Disbiyozis ve FMT Tedavisi Sonrası Artrit ile İndüklenen Hayvanların Histopatoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması

Antibiyotikle indüklenen disbiyozis oluşturulmuş ve CIA modeli gerçekleştirilmiş çalışmalarda eklem patolojisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. İlgili çalışmalarda eklem kalınlığı baz alınmış ve değerlendirmeler bu şekilde gerçekleştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Zeng ve ark., 2021) klindamisinin farelerde sütten kesilme zamanı olan 0. haftadan 4. haftaya kadar uygulanmasının CIA modelinde koruyucu olabileceğini ve klinik skorlamayı gerilettiğini göstermiştir. Aynı yayın 0. haftadan 8. haftaya kadar klindamisin uygulamasının CIA modelinde hastalık

şiddetinin arttırdığı ve klinik skorlanmanın da arttığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda farklı bir antibiyotik kullanılmış ve antibiyotik tedavisi gebeliğin son haftası başlanmıştır. Bu durumlar göze alındığında yöntemlerimiz farklı olsa da, kıyaslamak gerekirse bizim çalışmamızda disbiyozis ve FMT'nun klinik skorlara bir etkisi olmamıştır. Bir başka çalışmada ise artrit hastalarından farelere FMT uygulanmış ve bu durumun CIA modelinde şiddeti artırabildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada verilen histolojik sonuçta artrit hastalarından FMT uygulandıktan sonra CIA modeli oluşturulan farelerde eklem bölgesinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadaki verilerilin sonuçlarımızla paralel olduğunu söylemek mümkündür. Çünkü hasta bireylerden fekal içerik transplantasyonu da bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkileyecek bir durumdur. Bizim çalışmamızda da disbiyozis grubunda histopatolojik skorların daha yüksek olduğunu gördük.

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlama gebe farede tedaviye başlandıktan sonra yeterli sayıda yavru doğmaması ve doğan yavruların cinsiyet dağılımının farklı olmasıdır. Az sayıda erkek yavru doğması gerekli sayılara ulaşana kadar deneyin tekrar edilmesine sebep olmuştur. Ayrıca vankomisinin yüksek dozlarda aborta sebep olması durumu da söz konusudur. Doz iyi ayarlanmasına rağmen farklı çevresel etmenlerden dolayı gebe farenin çok antibiyotikli su tüketmesi durumunda abortla karşılaşılabilir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bireysel farklıklar da çalışmamız için diğer bir kısıtlayıcı durumdur. Aynı tedavi bir fare için yüksek disbiyozla sonuçlanırken diğerinde daha düşük oranlarda fark oluşturabilir. Aynı şekilde FMT tedavisi bir farede daha iyi sonuçlar gösterirken diğer bir fareyi daha az etkileyebilir. Bu sebeple tüm sonuçlarımızda ortalama değer alınıp, tüm çıkarımlar ortalamalara göre yapılmıştır. Literatürle kıyaslandığında bulduğumuz sonuçların parellelliği kadar aykırılığı da söz konusur. Mikrobiyota çalışmalarının ve disbiyoz modellerinin henüz bir gold standardı olmadığından benzer disbiyoz çalışmlarında farklı sonuçlar bulunmuş gibi gözlenebilir. Ancak antibiyotik türünün, antibiyotik tedavisinin süresinin, antibiyotik uygulanma yaşının, kullanılan fare ırkının ve diğer değişebilecek faktörlerin mikrobiyomu etkileyebileceğini göz ardı etmemek gerekir.

Çalışmamız sonucunda bağırsak mikrobiyotasındaki maternal disbiyozun ve disbiyozun FMT ile tedavisinin farelerde beden ağırlığı üzerine etkili olduğu, özellikle

düşük doğum ağırlığına sebep olabileceği gösterilmiştir. Disbiyozun CIA modelinde hastalık şiddetinin artmasına ve disbiyozun FMT ile tedavi edilmesinin bu şiddeti gerileteceği gösterilmiştir.

Mikrobiyom çalışmaları ve mikrobiyom hedefli tedaviler otoimmün hastalıklarda gelecek vaadeden bir konudur. Sonuçlarımız doğrultusunda bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı ve disbiyoz durumlarının otoimmüniteye nasıl bir katkısı olduğunu derinlemesine araştırmak mikrobiyom temelli tedavilerin geliştirilmesi için oldukça önemlidir.

6. KAYNAKLAR

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2007). Cellular and molecular immunology 6th edition.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2022). Cellular and molecular immunology E-book. Elsevier Health Sciences.

AKCA, Ü. K., & BİLGİNER, Y. (2021). Otoimmünite ve Romatizmal Hastalıklarda Otoimmün Mekanizmalar. *Turkiye Klinikleri Pediatric Rheumatology-Special Topics*, *2*(1), 1-8.

Alam, J., Kim, Y. C., & Choi, Y. (2014). Potential role of bacterial infection in autoimmune diseases: a new aspect of molecular mimicry. *Immune Network*, *14*(1), 7-13. DOI: https://doi.org/10.4110/in.2014.14.1.7

Aletaha, D., & Smolen, J. S. (2011). Joint damage in rheumatoid arthritis progresses in remission according to the Disease Activity Score in 28 joints and is driven by residual swollen joints. *Arthritis & Rheumatism*, *63*(12), 3702-3711. DOI: https://doi.org/10.1002/art.30634

Aletaha, D., & Smolen, J. S. (2018). Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review. *Jama*, *320*(13), 1360-1372. DOI: 10.1001/jama.2018.13103

Alhasan, M. M., Hölsken, O., Duerr, C., Helfrich, S., Branzk, N., Philipp, A., ... & Conrad, M. L. (2023). Antibiotic use during pregnancy is linked to offspring gut microbial dysbiosis, barrier disruption, and altered immunity along the gut–lung axis. *European Journal of Immunology*, *53*(10), 2350394. DOI: 10.1002/eji.202350394

Allen, J. M., Miller, M. E. B., Pence, B. D., Whitlock, K., Nehra, V., Gaskins, H. R., ... & Woods, J. A. (2015). Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. *Journal of applied physiology*. DOI: https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01077.2014

Aqaeinezhad Rudbane, S. M., Rahmdel, S., Abdollahzadeh, S. M., Zare, M., Bazrafshan, A., & Mazloomi, S. M. (2018). The efficacy of probiotic supplementation in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Inflammopharmacology*, *26*, 67-76. DOI: https://doi.org/10.1007/s10787-017-0436-y

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., ... & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the national academy of sciences*, *101*(44), 15718-15723. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101

Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., ... & Wang, J. (2015). Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell host & microbe*, *17*(5), 690-703. DOI: 10.1016/j.chom.2015.04.004

Barker, D. J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *Bmj*, *311*(6998), 171-174

Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., ... & Wells, J. M. (2014). Intestinal permeability–a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology*, *14*, 1-25. https://doi.org/10.1186/s12876-014-0189-7

Bodkhe, R., Balakrishnan, B., & Taneja, V. (2019). The role of microbiome in rheumatoid arthritis treatment. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, *11*, 1759720X19844632. DOI: https://doi.org/10.1177/1759720X19844632

Bouskra, D., Brézillon, C., Bérard, M., Werts, C., Varona, R., Boneca, I. G., & Eberl, G. (2008). Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature*, *456*(7221), 507-510.
Burger D and Dayer J-M. The role of human T-lymphocyte-monocyte contact in inflammation and tissue destruction. Arthritis Res 2002; 4(Suppl. 3): S169–S176. DOI: https://doi.org/10.1186/ar558
Carmody, R. N., Gerber, G. K., Luevano, J. M., Gatti, D. M., Somes, L., Svenson, K. L., & Turnbaugh, P. J. (2015). Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell host & microbe*, *17*(1), 72-84. DOI: 10.1016/j.chom.2014.11.010
Ceylani, T., Jakubowska-Doğru, E., Gurbanov, R., Teker, H. T., & Gozen, A. G. (2018). The effects of repeated antibiotic administration to juvenile BALB/c mice on the microbiota status and animal behavior at the adult age. *Heliyon*, *4*(6). DOI: 10.1016/j.heliyon.2018.e00644
Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa, G. J. (2001, December). Skin microflora and bacterial infections of the skin. In *Journal of Investigative dermatology Symposium proceedings* (Vol. 6, No. 3, pp. 170-174). Elsevier.
Choi, H. H., & Cho, Y. S. (2016). Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clinical endoscopy*, *49*(3), 257-265.Microbiome, immunomodulation, and the neuronal system. Neurotherapeutics 2018; 15: 23–30. DOI: https://doi.org/10.5946/ce.2015.117
David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., ... & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, *505*(7484), 559-563. DOI: https://doi.org/10.1038/nature12820
DeFilipp, Z., Peled, J. U., Li, S., Mahabamunuge, J., Dagher, Z., Slingerland, A. E., ... & Chen, Y. B. (2018). Third-party fecal microbiota transplantation following allo-HCT reconstitutes microbiome diversity. *Blood advances*, *2*(7), 745-753. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018017731
Dembic, Z. (2015). *The cytokines of the immune system: the role of cytokines in disease related to immune response*. Academic Press.
Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2012). Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(9), 1369-1378. DOI: https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.03.007
Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(26), 11971-11975. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107
Dorożyńska, I., Majewska-Szczepanik, M., Marcińska, K., & Szczepanik, M. (2014). Partial depletion of natural gut flora by antibiotic aggravates collagen induced arthritis (CIA) in mice. *Pharmacological Reports*, *66*, 250-255. DOI: 10.1016/j.pharep.2013.09.007
Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*, *308*(5728), 1635-1638.
EISEMAN, B., Silen, W., GS, B., & AJ, K. (1958). Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*, *44*(5), 854-859.
Francino, M. (2016). Antibiotics and the human gut microbiome: dysbioses and

accumulation of resistances. *Frontiers in microbiology*, *6*, 164577. 10.3389/fmicb.2015.01543
Francino, M. P. (2015). *Antibiotics and the human gut microbiome: dysbioses and accumulation of resistances. Front Microbiol 6: 1543*.
Frank, D. N., St. Amand, A. L., Feldman, R. A., Boedeker, E. C., Harpaz, N., & Pace, N. R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the national academy of sciences*, *104*(34), 13780-13785. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104
Fröhlich, E. E., Farzi, A., Mayerhofer, R., Reichmann, F., Jačan, A., Wagner, B., ... & Holzer, P. (2016). Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain, behavior, and immunity*, *56*, 140-155. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.02.020
Goodrich, J. K., Davenport, E. R., Waters, J. L., Clark, A. G., & Ley, R. E. (2016). Cross-species comparisons of host genetic associations with the microbiome. *Science*, *352*(6285), 532-535. DOI: 10.1126/science.aad9379
Gordon, J. H., & Dubos, R. (1970). The anaerobic bacterial flora of the mouse cecum. *The Journal of Experimental Medicine*, *132*(2), 251.
Groschwitz, K. R., Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 124(1), 3–20.gutjnl-2016-312132
Halpern MT, Cifaldi MA and Kvien TK. Impact of adalimumab on work participation in rheumatoid arthritis: comparison of an open-label extension study and a registrybased control group. Ann Rheum Dis 2009; 68: 930–937. DOI: https://doi.org/10.1136/ard.2008.092734
Halpern, M. T., Cifaldi, M. A., & Kvien, T. K. (2009). Impact of adalimumab on work participation in rheumatoid arthritis: comparison of an open-label extension study and a registry-based control group. *Annals of the rheumatic diseases*, *68*(6), 930-937. DOI: https://doi.org/10.1136/ard.2008.092734
Hooper, L. V., Littman, D. R., & Macpherson, A. J. (2012). Interactions between the microbiota and the immune system. *science*, *336*(6086), 1268-1273. DOI: 10.1126/science.1223490
Ishikawa, H., Tanaka, K., Maeda, Y., Aiba, Y., Hata, A., Tsuji, N. M., ... & Matsumoto, T. (2008). Effect of intestinal microbiota on the induction of regulatory CD25+ CD4+ T cells. *Clinical & Experimental Immunology*, *153*(1), 127-135.
Ivanov, I. I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E. L., Shima, T., Karaoz, U., ... & Littman, D. R. (2009). Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*, *139*(3), 485-498. DOI: 10.1016/j.cell.2009.09.033
Ivanov, I. I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E. L., Shima, T., Karaoz, U., ... & Littman, D. R. (2009). Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*, *139*(3), 485-498.
Ivanov, I. I., de Llanos Frutos, R., Manel, N., Yoshinaga, K., Rifkin, D. B., Sartor, R. B., ... & Littman, D. R. (2008). Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell host & microbe*, *4*(4), 337-349.
Jacobi, A. M., & Diamond, B. (2005). Balancing diversity and tolerance: lessons from patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of experimental medicine*, *202*(3), 341. DOI: 10.1084/jem.20050221

Jernberg, C., Lofmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2010). Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, *156*(11), 3216-3223. DOI: https://doi.org/10.1099/mic.0.040618-0
Jernberg, C., Lofmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2010). Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, *156*(11), 3216-3223.
Kang, S. S., Jeraldo, P. R., Kurti, A., Miller, M. E. B., Cook, M. D., Whitlock, K., ... & Fryer, J. D. (2014). Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Molecular neurodegeneration*, *9*, 1-12. DOI: https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-36
Kelsall, B. L., & Leon, F. (2005). Involvement of intestinal dendritic cells in oral tolerance, immunity to pathogens, and inflammatory bowel disease. *Immunological reviews*, *206*(1), 132-148.
Khanna, S., Jaiswal, K. S., & Gupta, B. (2017). Managing rheumatoid arthritis with dietary interventions. *Frontiers in nutrition*, *4*, 301603. DOI: https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00052
Kohashi, O., Kuwata, J., Umehara, K., Uemura, F., Takahashi, T., & Ozawa, A. (1979). Susceptibility to adjuvant-induced arthritis among germfree, specific-pathogen-free, and conventional rats. *Infection and immunity*, *26*(3), 791-794. DOI: https://doi.org/10.1128/iai.26.3.791-794.1979
Kunz, C., Kuntz, S., & Rudloff, S. (2009). Intestinal flora. *Adv Exp Med Biol*, *639*(4), 67-79.
Lankelma, J. M., Cranendonk, D. R., Belzer, C., De Vos, A. F., De Vos, W. M., Van Der Poll, T., & Wiersinga, W. J. (2017). Antibiotic-induced gut microbiota disruption during human endotoxemia: a randomised controlled study. *Gut*, *66*(9), 1623-1630. DOI: 10.1136/
Lappin, D. F., Apatzidou, D., Quirke, A. M., Oliver-Bell, J., Butcher, J. P., Kinane, D. F., ... & Culshaw, S. (2013). Influence of periodontal disease, Porphyromonas gingivalis and cigarette smoking on systemic anti-citrullinated peptide antibody titres. *Journal of clinical periodontology*, *40*(10), 907-915. DOI: https://doi.org/10.1111/jcpe.12138
Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Ramey, R. R., Bircher, J. S., ... & Gordon, J. I. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *science*, *320*(5883), 1647-1651. DOI: 10.1126/science.1155725
Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, *124*(4), 837-848.
Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, *124*(4), 837-848.
Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *nature*, *444*(7122), 1022-1023. DOI: https://doi.org/10.1038/4441022a
Lima-Junior, D. S., Krishnamurthy, S. R., Bouladoux, N., Collins, N., Han, S. J., Chen, E. Y., ... & Belkaid, Y. (2021). Endogenous retroviruses promote homeostatic and inflammatory responses to the microbiota. *Cell*, *184*(14), 3794-3811. DOI: 10.1016/j.cell.2021.05.020
Ling, Z., Li, Z., Liu, X., Cheng, Y., Luo, Y., Tong, X., ... & Xiang, C. (2014). Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Applied and environmental microbiology*, *80*(8), 2546-2554.

Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, *489*(7415), 220-230. DOI: https://doi.org/10.1038/nature11550

Luo, Y., Tong, Y., Wu, L., Niu, H., Li, Y., Su, L. C., ... & Liu, Y. (2023). Alteration of Gut Microbiota in Individuals at High-Risk for Rheumatoid Arthritis Associated With Disturbed Metabolome and the Initiation of Arthritis Through the Triggering of Mucosal Immunity Imbalance. *Arthritis & Rheumatology*, *75*(10), 1736-1748. DOI: 10.1002/art.42616

Madany, A. M., Hughes, H. K., & Ashwood, P. (2022). Prenatal maternal antibiotics treatment alters the gut microbiota and immune function of post-weaned prepubescent offspring. *International journal of molecular sciences*, *23*(21), 12879. DOI: 10.3390/ijms232112879

Maeda, Y., & Takeda, K. (2017). Role of gut microbiota in rheumatoid arthritis. *Journal of clinical medicine*, *6*(6), 60. DOI: https://doi.org/10.3390/jcm6060060

Manfredo Vieira, S., Hiltensperger, M., Kumar, V., Zegarra-Ruiz, D., Dehner, C., Khan, N., ... & Kriegel, M. A. (2018). Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science*, *359*(6380), 1156-1161. DOI: 10.1126/science.aar7201

Marietta E, Horwath I and Taneja V. Mi Marietta, E., Horwath, I., & Taneja, V. (2018). Microbiome, immunomodulation, and the neuronal system. *Neurotherapeutics*, *15*(1), 23-30. DOI: https://doi.org/10.1007/s13311-017-0601-4

Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O., & Kasper, D. L. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, *122*(1), 107-118. DOI: 10.1016/j.cell.2005.05.007

Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O., & Kasper, D. L. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, *122*(1), 107-118.

Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O., & Kasper, D. L. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, *122*(1), 107-118.

Miyoshi, J., & Hisamatsu, T. (2022). The impact of maternal exposure to antibiotics on the development of child gut microbiome. *Immunological Medicine*, *45*(2), 63-68. DOI: 10.1080/25785826.2021.1963189

Molina-Torres, G., Rodriguez-Arrastia, M., Roman, P., Sanchez-Labraca, N., & Cardona, D. (2019). Stress and the gut microbiota-brain axis. *Behavioural pharmacology*, *30*(2 and 3), 187-200. DOI: 10.1097/FBP.0000000000000478

Morreale, C., Giaroni, C., Baj, A., Folgori, L., Barcellini, L., Dhami, A., ... & Bresesti, I. (2023). Effects of perinatal antibiotic exposure and neonatal gut microbiota. *Antibiotics*, *12*(2), 258. DOI: 10.3390/antibiotics12020258

Moya-Alvarez, V., & Sansonetti, P. J. (2022). Understanding the pathways leading to gut dysbiosis and enteric environmental dysfunction in infants: the influence of maternal dysbiosis and other microbiota determinants during early life. *FEMS Microbiology Reviews*, *46*(3), fuac004. DOI: 10.1093/femsre/fuac004

Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z., & Dominguez-Bello, M. G. (2015). The infant microbiome development: mom matters. *Trends in molecular medicine*, *21*(2), 109-117.

Myers, S. P., & Hawrelak, J. (2004). The causes of intestinal dysbiosis: a

review. *Altern Med Rev*, *9*(2), 180-197.
Nyangahu, D. D., Lennard, K. S., Brown, B. P., Darby, M. G., Wendoh, J. M., Havyarimana, E., ... & Jaspan, H. B. (2018). Disruption of maternal gut microbiota during gestation alters offspring microbiota and immunity. *Microbiome*, *6*, 1-10. DOI: 10.1186/s40168-018-0511-7
O'Hara, A. M., & Shanahan, F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports*, *7*(7), 688-693. DOI: https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400731
Ortmann, R. A., & Shevach, E. M. (2001). Susceptibility to collagen-induced arthritis: cytokine-mediated regulation. Clinical Immunology, 98(1), 109-118.
Owen, J. A., Punt, J., Stranford, S. A., & Jones, P. P. (2013). *Kuby immunology* (Vol. 27, p. 109). New York: WH Freeman. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms11122917
Pianta, A., Arvikar, S., Strle, K., Drouin, E. E., Wang, Q., Costello, C. E., & Steere, A. C. (2017). Evidence of the immune relevance of Prevotella copri, a gut microbe, in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & rheumatology*, *69*(5), 964-975. DOI: https://doi.org/10.1002/art.40003
Pietrasanta, C., Carlosama, C., Lizier, M., Fornasa, G., Jost, T. R., Carloni, S., ... & Rescigno, M. (2024). Prenatal antibiotics reduce breast milk IgA and induce dysbiosis in mouse offspring, increasing neonatal susceptibility to bacterial sepsis. *Cell Host & Microbe*, *32*(12), 2178-2194. DOI: 10.1016/j.chom.2024.11.001
Pilla, R., & Suchodolski, J. S. (2020). The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Frontiers in veterinary science*, *6*, 498. DOI: https://doi.org/10.1002/art.40003
Poorana Pushkalai, S., & Gayathiri, N. M. (2024). ADVANCEMENTS IN RHEUMATOID ARTHRITIS MANAGEMENT: A COMPREHENSIVE REVIEW OF EARLY DIAGNOSIS AND TREATMENT STRATEGIES. DOI: 10.20959/wjpps20244-26957
Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, *118*(2), 229-241. DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.002
Rath, S., Rox, K., Kleine Bardenhorst, S., Schminke, U., Dörr, M., Mayerle, J., ... & Vital, M. (2021). Higher trimethylamine-N-oxide plasma levels with increasing age are mediated by diet and trimethylamine-forming bacteria. *MSystems*, *6*(5), 10-1128. https://doi.org/10.1128/msystems.00945-21
Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., ... & Collado, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial ecology in health and disease*, *26*(1), 26050. DOI: http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.26050
Rosa, C. P., Brancaglion, G. A., Miyauchi-Tavares, T. M., Corsetti, P. P., & de Almeida, L. A. (2018). Antibiotic-induced dysbiosis effects on the murine gastrointestinal tract and their systemic repercussions. *Life sciences*, *207*, 480-491. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.06.030
Schepici, G., Silvestro, S., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2019). The gut microbiota in multiple sclerosis: an overview of clinical trials. *Cell transplantation*, *28*(12), 1507-1527. DOI: https://doi.org/10.1177/096368971987389
Scher, J. U., & Abramson, S. B. (2013). Periodontal disease, Porphyromonas gingivalis, and rheumatoid arthritis: what triggers autoimmunity and clinical disease?. *Arthritis Research & Therapy*, *15*, 1-3. DOI: https://doi.org/10.1186/ar4360

Scher, J. U., Sczesnak, A., Longman, R. S., Segata, N., Ubeda, C., Bielski, C., ... & Littman, D. R. (2013). Expansion of intestinal Prevotella copri correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *elife*, *2*, e01202. DOI: https://doi.org/10.7554/eLife.01202
Schwartz, R. H. (2003). T cell anergy. *Annual review of immunology*, *21*(1), 305-334. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141110
Seekatz, A. M., Aas, J., Gessert, C. E., Rubin, T. A., Saman, D. M., Bakken, J. S., & Young, V. B. (2014). Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation. *MBio*, *5*(3), 10-1128. DOI: 10.1128/mBio.00893-14.
Seida, I., Al Shawaf, M., & Mahroum, N. (2024). Fecal microbiota transplantation in autoimmune diseases–An extensive paper on a pathogenetic therapy. *Autoimmunity Reviews*, 103541. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2024.103541
Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews*.
Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS biology*, *14*(8), e1002533. DOI: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2024.103541
Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS biology*, *14*(8), e1002533
Shi, Y., Kellingray, L., Zhai, Q., Gall, G. L., Narbad, A., Zhao, J., ... & Chen, W. (2018). Structural and functional alterations in the microbial community and immunological consequences in a mouse model of antibiotic-induced dysbiosis. *Frontiers in microbiology*, *9*, 1948.) DOI: 10.3389/fmicb.2018.01948
Singh, R. R., Dubey, S., & Pinkhasov, J. (2013). Immune tolerance defects in lupus. In *Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes* (pp. 256-272). WB Saunders. DOI: https://doi.org/10.1089/jir.2018.0060
Snyder, J. (2017). Immunology and Allergy. *The Harriet Lane Handbook E-Book: The Harriet Lane Handbook E-Book*, *1*, 395.
Stanisavljević, S., Lukić, J., Momčilović, M., Miljković, M., Jevtić, B., Kojić, M., ... & Miljković, D. (2016). Gut-associated lymphoid tissue, gut microbes and susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Beneficial Microbes*, *7*(3), 363-373.
Stiemsma, L. T., Arrieta, M. C., Dimitriu, P. A., Cheng, J., Thorson, L., Lefebvre, D. L., ... & Turvey, S. E. (2016). Shifts in Lachnospira and Clostridium sp. in the 3-month stool microbiome are associated with preschool age asthma. *Clinical Science*, *130*(23), 2199-2207.
Sudo, N., Sawamura, S. A., Tanaka, K., Aiba, Y., Kubo, C., & Koga, Y. (1997). The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, *159*(4), 1739-1745. DOI: https://doi.org/10.4049/jimmunol.159.4.1739
Sultan, A. A., Mallen, C., Muller, S., Hider, S., Scott, I., Helliwell, T., & Hall, L. J. (2019). Antibiotic use and the risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. *BMC medicine*, *17*, 1-9. 10.1186/s12916-019-1394-6
Tian, Z., Liu, J., Liao, M., Li, W., Zou, J., Han, X., ... & Li, H. (2016). Beneficial effects of fecal microbiota transplantation on ulcerative colitis in mice. *Digestive diseases and sciences*, *61*, 2262-2271. DOI: 10.1007/s10620-016-4060-2
Tran, C. N., Lundy, S. K., & Fox, D. A. (2005). Synovial biology and T cells in

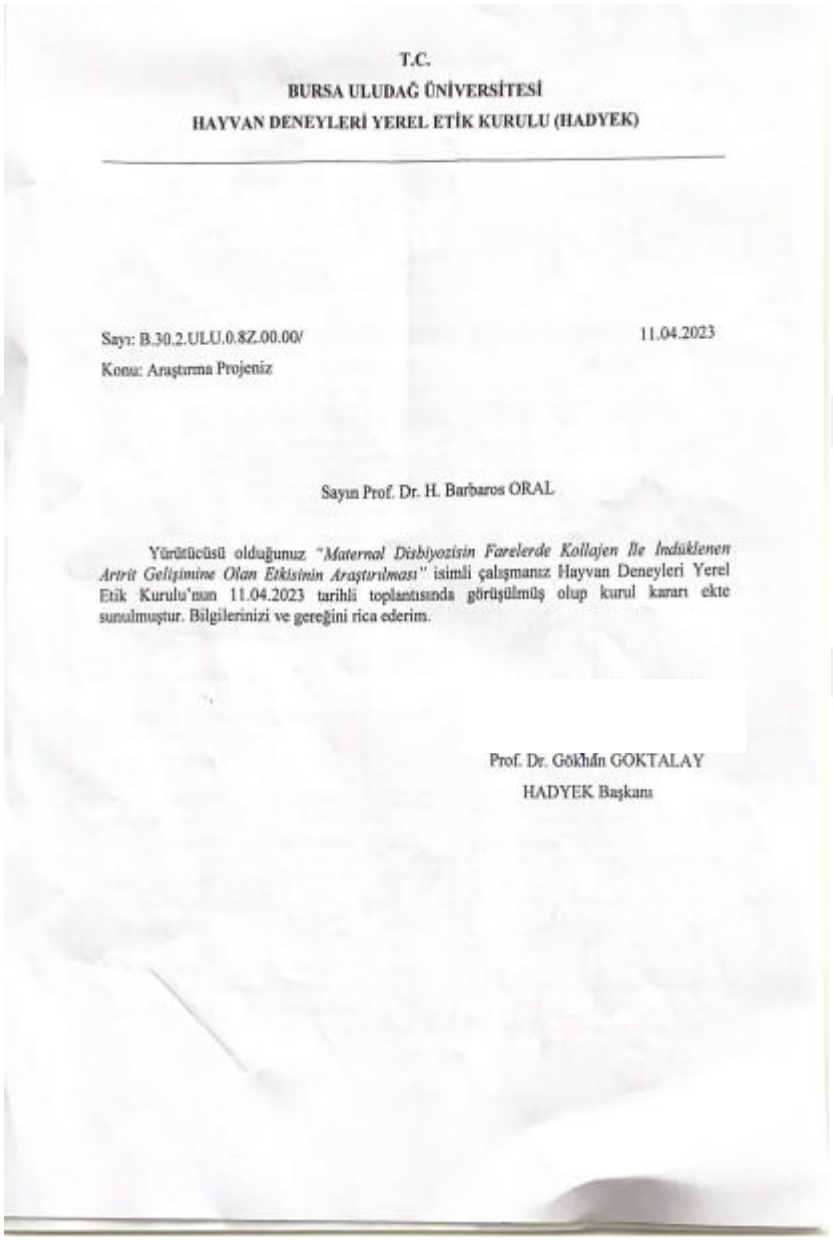
rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*, *12*(3), 183-189. DOI: https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2005.07.005
Tulstrup, M. V. L., Christensen, E. G., Carvalho, V., Linninge, C., Ahrné, S., Højberg, O., ... & Bahl, M. I. (2015). Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. *PloS one*, *10*(12), e0144854. DOI: 10.1371/journal.pone.0144854
Vidal, A. C., Murphy, S. K., Murtha, A. P., Schildkraut, J. M., Soubry, A., Huang, Z., ... & Hoyo, C. (2013). Associations between antibiotic exposure during pregnancy, birth weight and aberrant methylation at imprinted genes among offspring. *International journal of obesity*, *37*(7), 907-913.
Walker, R. W., Clemente, J. C., Peter, I., & Loos, R. J. (2017). The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero?. *Pediatric obesity*, *12*, 3-17.
Wallach, D. (2016, February). The cybernetics of TNF: Old views and newer ones. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 50, pp. 105-114). Academic Press. DOI: https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.10.014
Wampach, L., Heintz-Buschart, A., Fritz, J. V., Ramiro-Garcia, J., Habier, J., Herold, M., ... & Wilmes, P. (2018). Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential. *Nature communications*, *9*(1), 5091.
Wang, J., Zhou, X., Li, X., Guo, W., Zhu, Q., Zhu, B., ... & Wang, B. (2022). Fecal microbiota transplantation alters the outcome of hepatitis B virus infection in mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*, 844132. DOI: 10.3389/fcimb.2022.844132
Wardemann, H., Yurasov, S., Schaefer, A., Young, J. W., Meffre, E., & Nussenzweig, M. C. (2003). Predominant autoantibody production by early human B cell precursors. *Science*, *301*(5638), 1374-1377. DOI: 10.1126/science.1086907
Xing, Y., & Hogquist, K. A. (2012). T-cell tolerance: central and peripheral. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, *4*(6), a006957. DOI: 10.1101/cshperspect.a006957
Yang, S., Chen, H., Wei, B., Xiang, M., Hu, Z., Peng, Z., ... & Sun, J. (2018). Clindamycin administration increases the incidence of collagen-induced arthritis in mice through the prolonged impact of gut immunity. *Inflammation*, *41*, 1900-1911. 10.1007/s10753-018-0833-4
Zeng, J., Peng, L., Zheng, W., Huang, F., Zhang, N., Wu, D., & Yang, Y. (2021). Fecal microbiota transplantation for rheumatoid arthritis: A case report. *Clinical case reports*, *9*(2), 906-909. DOI: 10.1002/ccr3.3677
Zhang, Q., Cheng, L., Wang, J., Hao, M., & Che, H. (2021). Antibiotic-induced gut microbiota dysbiosis damages the intestinal barrier, increasing food allergy in adult mice. *Nutrients*, *13*(10), 3315. DOI: 10.3390/nu13103315

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ACPA: Anti-Siklik Sitrüline Peptit Antikoru (Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody)
AIRE: Otoimmün Düzenleyici Protein (Autoimmune Regulator Protein)
ALPS: Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom
APS: Otoimmün Poliendokrin Sendromu (Autoimmune Polyendocrine Syndromes)
BCL-2: B Hücreli Lenfoma 2 (B Cell Lymphoma)
BCR: B Hücre Reseptü (B Cell Receptors)
CIA: Kolajen Kaynaklı Artrit (Collagen-Induced Arthritis)
DH: Dendritik Hücre
EBNA-2: EB Nükleer Antijen 2
FAS: CD95
FASL: CD95 Ligandı
FMT: Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu
GF: Mikrobiyota Içermeyen **(**Germ-Free)
GİS: Gastrointestinal Sistem
HLA: Insan Lökosit Antijenleri (Human Leukoctye Antigen)
HLA-DP: Insan Lökosit Antijeni DP (Human Leukocyte Antigen DP)
HLA-DQ: Insan Lökosit Antijeni DQ (Human Leukocyte Antigen DQ)
HLA-DR: Insan Lökosit Antijeni DR (Human Leukocyte Antigen DR)
IBD: Inflamatuvar Bağırsak Sendromu
Iga: İmmünglobülin-A
IL-6: İnterlökin 6
MHC: Majör Histokompatibilite Kompleksi (Major Histocompatibility Complex)
PP: Peyer Plakları
PRR: Patern Tanıma Reseptörleri (Patern Recognition Receptors)
RA: Romatoid Artrit
RAG: Rekombinasyon Aktivatör Genleri (Recombination-Activating Genes)
RANKL: Nükleer Faktör Kb Liganının Reseptör Aktivatörü
SCFA: Kısa Zincirli Yağ Asitleri (Short Cahin Fatty Acids)
Th2: Yardımcı T Hücre 2 (T Helper 2)
THR: T Hücre Reseptörü (T Cell Receptors)
TMAO: Trimethylamine-N-Oxide
TNF: Tümör Nekrozis Faktör
Treg: Düzenleyici T Hücre (Regülatör T Cell)

Ek-1

8. EKLER



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Sayı: B.30.2.ULU.0.8Z.00.00/ 11.04.2023
Konu: Araştırma Projeniz

Sayın Prof. Dr. H. Barbaros ORAL

Yürütücüsü olduğunuz *"Maternal Disbiyozisin Farelerde Kollajen İle İndüklenen Artrit Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması"* isimli çalışmanız Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 11.04.2023 tarihli toplantısında görüşülmüş olup kurul kararı ekte sunulmuştur. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Gökhan GOKTALAY
HADYEK Başkanı

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	*Maternal Dübyazisin Farelerde Kollajen İle İndüklenen Artrit Gelişimine Olan Etkisinin Araştırılması*
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. H. Barbaros ORAL BUÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İmmünoloji BD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Prof. Dr. Murat YALÇIN Prof. Dr. Ahmet AKKOÇ Mol. Biol. Fatmanur DÜNDAR Uzm. Mol. Biol. Gözde ARSLAN Dr. Öğr. Üyesi Diğdem YÖYEN ERMİŞ
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Fatmanur DÜNDAR'ın Yüksek Lisans Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	Haziran 2023 – Haziran 2025
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	55 Adet Dişi – Erkek Fare

	Belge Adı	Tarihi
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	31.03.2023

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2023 - 06 / 05	Tarih: 11.04.2023
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırıcıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırıcılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza Kabul	İmza Ret	Düşünceler
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	☐ E ■ H			
Dr.Öğr. Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	☐ E ■ H			
Dr.Öğr. Üyesi Diğdem YÖYEN ERMİŞ Üye	Tıp- İmmunoloji	Tıp Fakültesi	■ E ☐ H			
Prof. Dr. Veli Yiğör ÇIRAK Üye	Veteriner-Parazitoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner-Patoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Doç. Dr. Arda SÖZCÜ Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	☐ E ■ H			
Asiye Işıl SEZER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Diş Hekimi	☐ E ■ H			
Filiz TORUN Üye	Sivil Üye	Emekli	☐ E ■ H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	☐ E ■ H			

9. TEŞEKKÜR

Öncelikle tez danımşanım Prof. Dr. H. Barbaros ORAL' a stajerliğimden tez çalışmamın tamamlanmasına kadar olan tüm süreçte bilgisi ve tecrübesiyle bana yol gösterdiği için teşekkür ederim.

Tez projemde yer alan ve projemin tasarlanmasında, deneylerimde ve analizlerimde bana çok destek sağlayan Prof. Dr. Murat YALÇIN hocama teşekkür ederim. Bu süreçte sürekli yanımda olması benim için çok kıymetliydi.

Stajerliğimden bu yana bildiği her şeyi bana ve tüm ekibimize öğreten ve akademik anlamda sürekli yanımızda olan Doç. Dr. Diğdem YÖYEN ERMİŞ' e tüm eğitim sürecimdeki ve tez projemdeki destekleri için teşekkür ederim. Ayrıca kendi BAP projesi olan TAY-2022-601 nolu proje için alınmış olan IVC kafes sistemini tezimde kullanmamı sağladığı için ayrıca teşekkür etmek isterim.

Tezimin tüm patolojik çalışmalarını üstelenen ve gece, gündüz, hafta sonu demeden tüm süreçte yanımda olan üniversitemiz veteriner fakültesi patoloji bölümü doktora öğrencisi Ezgi YUMUŞAK'a çok teşekkür ederim.

Bölümümüzün değerli hocalarından Dr. Öğr. Üyesi S. Haldun BAL' tüm olumlu enerjisi ve dinamikliğiyle yanımızda olduğu için teşekkür ederim. Ayrıca başta Ceren ESEN olmak üzere laboratuvar ekimizdeki tüm yüksek lisans ve doktora öğrencilerimize böyle güzel bir ekip olduğumuz için teşekkür ederim.

Tezimi TYL-2023-1567 kodu ile LTP projesi olarak kabul edip destekleyen Bilimsel Araştıma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Henüz 9 yaşında ben bilim insanı olacağım diyen kız çocuğunu her zaman yüreklendirdiği, değer verdiğim tüm erdemleri ve öğrenme aşkımı bana kazandırdığı için ilkokul öğretmenim Yıldız KARAKAYA' ya ve biyoloji bilimini çok sevmemi sağlayan lise biyoloji öğretmenim Ayşe AYVAZ' yürekten teşekkür ederim.

İmmünoloji laboratuvarımıza girdiğim günden beri tüm bilgisi ile yanımda olan, bildiği her şeyi öğreten, anlatan, sıkılmadan tüm sorularımı yanıtlamaya çalışan, tüm tez deneylerimde gece, gündüz, hafta sonu her an yanımda olan kıymetli doktora öğrencimiz Gözde ARSLAN' a hem ekip arkadaşım olduğu için hem de gerçek anlamda ablam olduğu için, maddi ve manevi tüm destekleri için çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan aileme, annem Sevim DÜNDAR, babam ARİF DÜNDAR ve abim Süleyman Sait DÜNDAR' a sevgileri, emekleri ve destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak yaşadığım tüm zorluklara rağmen yılmadığım, vazgeçmediğim için kendime teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı- Soyadı: Fatmanur DÜNDAR
Doğum Yeri- Tarihi:
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lisans: Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (2017- 2021)
Yüksek Lisans: Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı (2021-Halen)
e-posta:
Adres: Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı 16059, Görükle Kampüs/Bursa/TÜRKİYE
ULUSAL/ ULUSLARARASI SUNUMLAR:

Tissue resident/infiltrated macrophages isolation and their artificial expansion in 3D cells culture
Dündar F., Özalp E., Etgü O., Oral B., Yöyen Ermiş D., 2022, V. International molecular ımmunologhy and immunogenetics congress (MIMIC V), Poster Sunumu

Doku Yerleşik/İnfiltre Makrofajların İzolasyonu ve Organ Nişleri Korunarak Gerçekleştirilen 3 Boyutlu Hücre Kültürü Ortamında Büyütülmesi,
Dündar F., Etgü O., Esen C., Yağcıoğlu B., Özalp E., Oral B., Yöyen Ermiş D., 2023, XXVI. Ulusal immünoloji kongresi Poster Sunumu

Monocyte/Macrophage Associated Immunmodulatory Function of CD44/CD24 Phenotype in Triple Negative Breast Cancer (TNBC) Subgroups on T Cell Responses
Etgü O., **Dündar F**., Özalp E., Oral B., Yöyen Ermiş D., 2022, V. International molecular ımmunologhy and immunogenetics congress (MIMIC V), Poster Sunumu

Understanding Tissue-resident Macrophage Polarization in Bazal-like Breast Cancer Metastasis
Özalp E., **Dündar F**., Etgü O., Oral B., Yöyen Ermiş D., 2022, V. International molecular ımmunologhy and immunogenetics congress (MIMIC V), Poster Sunumu

Çoklu Gen Modifikasyonları ile Tolerans İndükleyici Hale Getirilmiş Dendritik Hücreleri ile Deneysel Allerjik Ensefalomiyelit Tedavisi: MS Tedavisi İçin Yeni Bir Yaklaşım
Arslan G., Karaçay M., Çelik E., Yumuşak E., Etgü O., Dombaz F., **DÜNDAR F.,** Yöyen Ermiş D., Ersoy F., Yılmaztepe Oral A., Akkoç A., Sütlü T., Yalçın M., Oral B., 2022, 12. Klinik Nöroimmünoloji Sempozyumu, Sözlü Sunum (En iyi 3. Sözlü bildiri ödülü)

Therapeutic Use of Bone Marrow-Derived Tolerogenic Dendritic Cells Modified by Lentiviral Transduction in C57BL/6 EAE Model
Arslan G., Karaçay M., Çelik E., Yumuşak E., Güvenç Bayram G., **DÜNDAR F.,** Yöyen Ermiş D., Ersoy F., Yılmaztepe Oral A., Akkoç A., Sütlü T., Yalçın M., Oral B., 2022, V. International molecular ımmunologhy and immunogenetics congress (MIMIC V), Poster Sunumu

A151 ODN Oligonükleotidini Kullanarak Kemik İliğinden Türevlenen Makrofajın M2 Fenotipine Dönüştürülmesi
Çelik M., Arslan G., Güvenç Bayram G., **Dündar F.,** Yumuşak E., Karaçay M., Bal H., Yöyen Ermiş D., Gürsel İ., Akkoç A., Yalçın M., Oral B., 2023, İmmuno-Romatoloji Sempozyum'u, Sözlü Sunum

Dysbiosis and Hemorhagic Shock: Respiratory Response
Güvenç Bayram G., Semen Z., Arslan G., **Dündar F.,** Yalçın M., 2024, 7. İnternational Eurasian Conferenge on Biological and Chemical Science (EurasianBioChem 2024), Sözlü Sunum

M2c-like macrophage associated immunomodulatory function on CD44/CD24 phenotype in triple negative breast cancer (TNBC) subgroups
Etgü O., Bal H., **Dündar F.,** Yağcıoğlu B., Özalp E., Oral B., Yöyen Ermiş D., 2024, ECI-7. European Congress of Immunology, Poster Sunumu