



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Farmakoloji

[Yüksek Lisans Tezi]

**ANTİBİYOTİKLER İLE RATLARDA OLUŞTURULAN MİKROBİYOTA
HASARINA BAĞLI KAN GLUKOZ DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİMİN VE
PROBİYOTİKLERİN BU DEĞİŞİMİ ÖNLEME POTANSİYELİNİN
İNCELENMESİ**

Ozan ŞEN
ORCID: 0000-0002-9821-5362

Danışman
Doç. Dr. İpek DUMAN
ORCID: 0000-0002-0079-6374

Bu tez çalışması BAP tarafından 221318003 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2024



ÖN SÖZ

Projenin her aşamasında fikirlerime değer veren, bana güvenen ve destekleyen danışmanım Doç. Dr. İpek Duman'a, yüksek lisans sürecimdeki derslerde değerli bilgilerini benimle paylaşan Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin, Prof. Dr. Kısmet Esra Nurullahoğlu Atalık ve Prof. Dr. Salim Yalçın İnan'a teşekkür ederim.

Çalışmadaki verilerin istatistik analizleri Öğr. Gör. Mehmet Sinan İyisoy'un yardımları ile yapılmıştır. Çalışmanın bütçesi Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının bakımı ve hayvanlara uygulanan işlemler KONÜDAM ekibinin yardımları ile yapılmıştır. Bu kişi ve kurumların çalışmaya destekleri için teşekkür ederim.

Ayrıca, bilimsel merakı bana öğreten annem Nilüfer Sevinçhan ve babam Muammer Şen'e, bir bilim insanı olma yolunda her zaman örnek aldığım kardeşim Onur Şen'e, her kararımda beni destekleyen ve yanımda olan eşim Aycan Şen'e teşekkür ederim.

Ozan ŞEN
Ocak 2024

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TEZ ONAY SAYFASI.....	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Bağırsak Mikrobiyotasını Oluşturan Bakteriler	5
2.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Glukoz Metabolizması İlişkisi.....	6
2.3. Probiyotiklerin Kan Glukoz Seviyesi Üzerindeki Etkileri	8
2.4. Antibiyotiklerin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri	9
2.4.1. Neomisin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri	9
2.4.2. Metronidazolün bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri	10
2.4.3. Florokinolon grubu antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri	11
2.4.4. Kombine antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri	11
2.5. Antibiyotiklerin Kan Glukoz Seviyesi Üzerindeki Etkileri	12
2.5.1. Neomisin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri	12
2.5.2. Metronidazolün kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri.....	12
2.5.3. Florokinolon grubu antibiyotiklerin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri	12
2.5.4. Kombine antibiyotiklerin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. Araştırmanın Türü	15
3.2. Araştırmanın Evreni ve Örnekleme	15
3.3. Verilerin Toplanması.....	16
3.3.1. Kan glukoz seviyesi ölçümleri	16
3.3.2. Vücut ağırlığı ölçümleri	16
3.3.3. Gaita örneklerinin alınması ve saklanması.....	16
3.3.4. DNA izolasyonu ve 16S rRNA sekanslaması	17
3.4. Sınırlılıklar	17

3.5. Verilerin Analizi.....	18
4. BULGULAR	19
4.1. Vücut Ağırlıkları	19
4.2. Kan Glukoz Seviyeleri	20
4.3. Mikrobiyota Analizleri.....	23
4.3.1. Alfa çeşitlilik analizleri	30
4.3.2. Beta çeşitlilik analizleri.....	32
5. TARTIŞMA	35
5.1. Neomisin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi	35
5.2. Metronidazolün Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi	36
5.3. Levofloksasin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi	37
5.4. <i>Lactobacillus plantarum</i> Türü Probiyotiğin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
7. KAYNAKLAR.....	45
8. EKLER.....	49

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **OZAN ŞEN**'in “**Antibiyotikler ile Ratlarda Oluşturulan Mikrobiyota Hasarına Bağlı Kan Glukoz Düzeylerindeki Değişimin ve Probiyotiklerin Bu Değişimi Önleme Potansiyelinin İncelenmesi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 18/01/2024

Tez Danışmanı Doç Dr. İpek DUMAN
Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN
Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Prof. Dr. Hülagu BARIŞKANER
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 24/01/2024 tarih ve 02/03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

“Antibiyotikler ile Ratlarda Oluşturulan Mikrobiyota Hasarına Bağlı Kan Glukoz Düzeylerindeki Değişimin ve Probiyotiklerin Bu Değişimi Önleme Potansiyelinin İncelenmesi” başlıklı tez çalışmamın toplam 42 sayfalık kısmına ilişkin, 19.12.2023 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%4** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

19/12/2023

Ozan ŞEN

Doç. Dr. İpek DUMAN

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

18.01.2024

Ozan ŞEN

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

dL: desilitre

g: gram

L: litre

mg: miligram

ml: mililitre



KISALTMALAR

CFU: Colony forming unit (Koloni oluşturucu ünite)

FFAR: Free fatty acid receptor (Serbest yağ asidi reseptörü)

FXR: Farsenoid X reseptörü

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

K_{ATP}: Adenozin trifosfat duyarlı potasyum kanalları

KONT: Kontrol

KONT-PB: Kontrol probiyotik

KONÜDAM: Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi

LVX: Levofloksasin

LVX-PB: Levofloksasin probiyotik

MTZ: Metronidazol

MTZ-PB: Metronidazol probiyotik

NEO: Neomisin

NEO-PB: Neomisin probiyotik

OTU: Operational taxonomic unit

PCoA: Principal Coordinate Analysis

PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)

PD: Phylogenetic diversity (filogenetik çeşitlilik)

SCFA: Short chain fatty acid (Kısa zincirli yağ asidi)

T2D: Tip 2 diabetes mellitus

TLR: Toll like receptor



TABLULAR LİSTESİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. İnsan bağırsağında bulunan başlıca bakteri türleri.....	5
Tablo 2.1. İnsan bağırsağında bulunan başlıca bakteri türleri (Devamı).....	6
Tablo 4.1. Deney hayvanlarının deney başlangıcı ve sonundaki vücut ağırlıkları	19
Tablo 4.2. Deney gruplarının günlere göre kan glukoz seviyesi ortalamaları	21
Tablo 4.3. Deney gruplarının günlere göre kan glukoz seviyesi değişimleri.....	22
Tablo 4.4. Deney gruplarının toplam OTU sayıları	23
Tablo 4.5. Deney gruplarının şube seviyesindeki bakteri oranları.....	26



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1.1. 2000-2022 yılları arasında mikrobiyota ile ilgili yapılan yıllık yayın sayıları	2
Şekil 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlıklarının deney başı ve sonundaki değerleri	20
Şekil 4.2. Deney gruplarının kan glukoz seviyelerinin günlere göre değişimi	21
Şekil 4.3. Deney gruplarının deney sonundaki kan glukoz seviyesi ortalamaları ve kontrol grubuna göre karşılaştırılması	23
Şekil 4.4. Deney gruplarındaki ortak olan ve olmayan OTU sayıları	24
Şekil 4.5. Deney gruplarının mikrobiyota kompozisyonları (Şubeye göre)	25
Şekil 4.6. Deney gruplarının mikrobiyota kompozisyonları (Aileye göre).....	27
Şekil 4.7. Firmicutes ve Bacteroidota harici türlerin toplam mikrobiyotaya oranı	28
Şekil 4.8. Proteobacteria şubesine ait türlerin toplam mikrobiyotaya oranı	29
Şekil 4.9. Cyanobacteria şubesine ait türlerin toplam mikrobiyotaya oranı	29
Şekil 4.10. Shannon Entropi indeksine göre tür çeşitlilikleri.....	30
Şekil 4.11. Faith's PD indeksine göre tür çeşitlilikleri	31
Şekil 4.12. Pielou düzgünlüğü indeksine göre tür çeşitlilikleri.....	32
Şekil 4.13. Bray Curtis PCoA gösterimi	33
Şekil 4.14. Unifrac distance PCoA gösterimi	33
Şekil 4.15. Unifrac distance box plot gösterimi	34

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Farmakoloji
[Yüksek Lisans Tezi]

ANTİBİYOTİKLER İLE RATLARDA OLUŞTURULAN MİKROBİYOTA HASARINA BAĞLI KAN GLUKOZ DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİMİN VE PROBİYOTİKLERİN BU DEĞİŞİMİ ÖNLEME POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ

Ozan ŞEN

Konya-2024

Konağın fizyolojisi ve bazı hastalıkların patofizyolojisinde büyük rol oynayan bağırsak mikrobiyotası son yıllarda gittikçe önem kazanan bir çalışma alanıdır. Son yıllarda keşfedilen önemli bir ilişki de bağırsak mikrobiyotası ve konağın glukoz metabolizması arasındadır. Bakterisiz farelerde yapılan çalışmalar bu farelerde normal farelere göre kan glukoz seviyelerinin daha düşük seyrettiğini göstermektedir. Ayrıca mikrobiyotasına kombine antibiyotikler ile zarar verilmiş farelerde de benzer sonuçlar görülmektedir. Bağırsak bakterilerinin rekolonizasyonu ile kan glukoz seviyelerindeki bu düşüş geri döndürülebilmektedir.

Bu tez çalışmasında neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerinin ratlarda içme suyu aracılığıyla verilmesi sonucu kan glukoz seviyeleri, vücut ağırlıkları ve bağırsak mikrobiyotasındaki değişimler incelenmiştir. Bununla birlikte bazı gruplara *Lactobacillus plantarum* türü probiyotik günlük olarak oral gavaj ile verilerek antibiyotiklere bağlı değişimleri önleme potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Wistar albino türü ratlara 10 gün boyunca antibiyotik ve probiyotik verdiğimiz çalışmada toplam 4 kere açlık kan glukoz seviyeleri (1. 4. 7. ve 11. günler), deney başı ve sonunda vücut ağırlıkları ve deney sonunda alınan gaita örneklerinden 16s rRNA sekanslaması ile mikrobiyota kompozisyonları ölçülmüştür.

Çalışma sonunda neomisin kan glukoz seviyeleri üzerinde bir etkisine rastlanmazken, metronidazol ve levofloksasine bağlı kan glukoz seviyelerinde anlamlı düşüşler görülmüştür. Vücut ağırlıklarında metronidazol ve neomisinde istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere, antibiyotik verilen grupların hepsinde azalma gözlenmiştir. Mikrobiyota verileri incelendiğinde antibiyotik verilen bütün gruplarda tür çeşitliliğinde azalma görülürken, en az değişim neomisin grubunda en fazla değişim ise levofloksasin grubunda görülmüştür. Kan glukoz seviyelerindeki en belirgin düşüşlerin görüldüğü metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında, alfa çeşitlilik analizine göre de tür çeşitliliklerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır. Çalışmamızda neomisin bağırsak mikrobiyotasındaki Bacteroidota ve Cyanobacteria türlerinin oranını artırırken, Firmicutes ve Proteobacteria türlerini azalttığı; metronidazolün Bacteroidota ve Proteobacteria türü bakterilerin oranını artırırken, Firmicutes türü bakterilerin oranını azalttığı; levofloksasinin Bacteroidota türü bakterilerin oranını artırırken, Firmicutes türü bakterilerin oranını azalttığı, Proteobacteria, Verrucomicrobiota, Cyanobacteria ve Patescibacteria türü bakterileri ise tamamen öldürdüğü saptanmıştır. *Lactobacillus plantarum* türü probiyotik, antibiyotiklere bağlı mikrobiyota değişimlerine etki etmesine rağmen, kan glukoz seviyelerindeki düşüşü yeterince önleyemediği gösterilmiştir. Ayrıca, kontrol grubuna göre sadece probiyotik verilen grupta vücut ağırlıklarının azaldığı, bu etkinin metronidazol ve levofloksasin ile birlikte probiyotik verilen gruplarda da öne çıktığı gözlenmiştir.

Çalışmamız üç antibiyotik için de tekli kullanımda kan glukoz seviyeleri ve mikrobiyota üzerindeki etkilerinin birlikte incelendiği ilk çalışmadır. Daha önceki çalışmalarda levofloksasine bağlı görülen hipogliseminin mekanizması için pankreasta potasyum kanalları üzerinde durulmuştur. Bizim bulduğumuz sonuçlar metronidazol ve levofloksasin için kan glukoz seviyelerindeki düşüşün mikrobiyota üzerindeki etkilerle de ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu ilişkinin daha detaylı incelenmesi için, ayrıntılı parametrelerle ve antibiyotik uygulanması sonrası daha uzun bir periyotta verilerin değerlendirildiği yeni çalışmalar literatüre katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotikler, Bağırsak mikrobiyotası, Hipoglisemi, Kan glukoz seviyesi, Probiyotikler.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Pharmacology
Medical Pharmacology
[Master Thesis]

INVESTIGATION OF THE CHANGE IN BLOOD GLUCOSE LEVELS DUE TO ANTIBIOTIC INDUCED MICROBIOTA DAMAGE IN RATS AND THE POTENTIAL OF PROBIOTICS TO PREVENT THIS CHANGE

Ozan ŞEN

Konya-2024

The gut microbiota, which plays a significant role in the host's physiology and the pathophysiology of certain diseases, has increasingly become a prominent area of study. One of the important relationships discovered in recent years is the connection between the gut microbiota and the host's glucose metabolism. Studies conducted on germ-free mice have shown that these mice tend to exhibit lower blood glucose levels compared to normal mice. Furthermore, similar results have been observed in animals whose microbiota was disrupted using combined antibiotics. The reduction in blood glucose levels has been reversible upon the recolonization of gut bacteria.

This thesis investigates the effects of administering neomycin, metronidazole, and levofloxacin antibiotics via drinking water in rats, examining changes in blood glucose levels, body weights, and alterations in gut microbiota. Furthermore, it was planned to examine the potential of preventing antibiotic-induced changes by giving *Lactobacillus plantarum* type probiotics to some groups daily via oral gavage. Wistar albino rats were given antibiotics and probiotics for a duration of 10 days, during which fasting blood glucose levels were measured four times (on days 1, 4, 7, and 11), and body weights were recorded at the beginning and end of the experiment. Additionally, microbiota compositions were assessed through 16S rRNA sequencing of fecal samples collected at the end of the experiment.

At the end of the study, no significant effect on blood glucose levels was seen with neomycin, while significant decreases in blood glucose levels were noticed with metronidazole and levofloxacin. In all groups given antibiotics, blood glucose levels were decreased while the reductions in metronidazole and neomycin groups were statistically significant. Analysis of microbiota data revealed a decrease in species diversity in all antibiotic-administered groups, with the least change observed in the neomycin group and the most significant changes in the levofloxacin group. In the metronidazole probiotic, levofloxacin and levofloxacin probiotic groups, where the most significant decreases in blood glucose levels were observed, phylogenetic diversity was found to decrease statistically significantly according to alpha diversity analysis. Our study indicated that neomycin increased the ratio of Bacteroidota and Cyanobacteria species in the gut microbiota while decreasing Firmicutes and Proteobacteria species; metronidazole increased the ratio of Bacteroidota and Proteobacteria species while decreasing Firmicutes; levofloxacin increased the ratio of Bacteroidota species while decreasing Firmicutes and completely eliminated Proteobacteria, Verrucomicrobiota, Cyanobacteria and Patescibacteria species. Although the *Lactobacillus plantarum* type probiotic affected the microbiota changes caused by antibiotics, it was shown that it could not sufficiently prevent the decrease in blood glucose levels. In addition, it was observed that body weights decreased in the group given only probiotics compared to the control group, and this effect was also prominent in the groups given probiotics together with metronidazole and levofloxacin.

Our study is the first to investigate the combined effects of blood glucose levels and microbiota alterations for all three antibiotics used individually. Previous studies on levofloxacin-induced hypoglycemia have focused on potassium channels in the pancreas. Our findings suggest that the decrease in blood glucose levels associated with metronidazole and levofloxacin may be related to their effects on the gut microbiota. To examine this relationship in more detail, new studies with detailed parameters and evaluating data over a longer period after antibiotic administration may contribute to the literature.

Keywords: Antibiotics, Blood glucose level, Gut microbiota, Hypoglycemia, Probiotics.



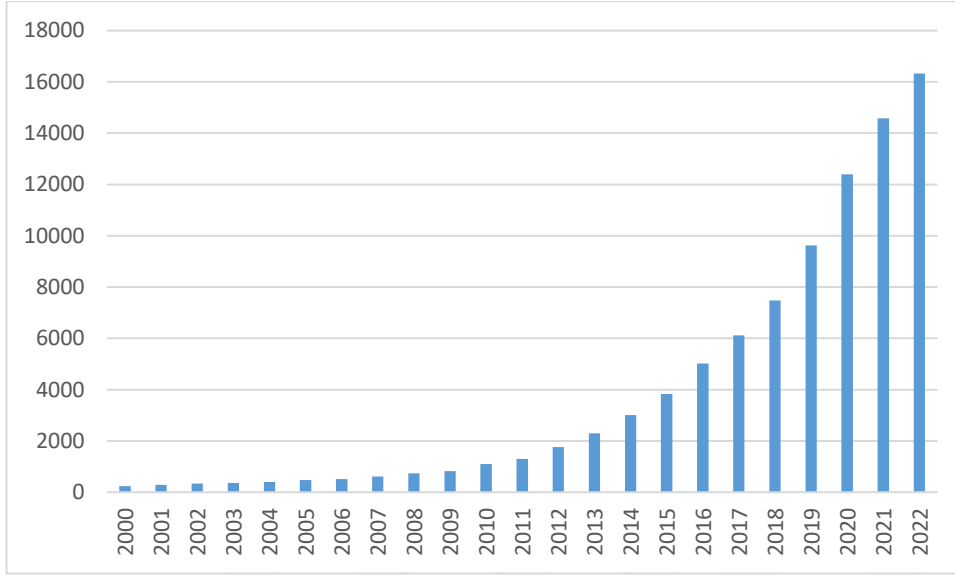
1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikrobiyota bir ortamda yaşayan bütün mikroorganizmaların toplamıdır. Konak ile uyum içerisinde yaşayan bu mikroorganizmalar mikroflora veya normal flora olarak adlandırılır. İnsan vücudunda toplamda 10^{14} bakteri yaşadığı düşünülmektedir. Bu sayı insan vücudundaki ortalama hücre sayısından 10 kat daha fazladır (Ley ve ark., 2006). İnsan vücudundaki mikrobiyota deri üzerinde, genital bölgede, solunum sisteminde ve gastrointestinal sistemde olmak üzere bütün yüzeylerimizi kaplamış vaziyettedir (Chiller ve ark., 2001; Sekirov ve ark., 2010). Bu bölgeler arasında en fazla sayıda mikroorganizma gastrointestinal sistemde bulunmaktadır. Vücudumuzdaki toplam mikroorganizmaların yaklaşık %70'i kolonda yerleşmiş durumdadır (Ley ve ark., 2006). Bağırsağımızın yaklaşık 200 m²'lik yüzey alanı bakteri yaşamına uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bunun yanında gastrointestinal sistem zengin besin içeriği sayesinde de bakteriler için uygun ortamı sağlamaktadır (Sekirov ve ark., 2010).

Bağırsak mikrobiyotası hem bağırsak sağlığının devamlılığında hem de bir dizi metabolik aktivitede görev almaktadır. Öncelikle, bağırsaktaki bakteriler sindirim sisteminde önemli bir basamaktır. Besinlerden alınan yağların, amino asitlerin, vitaminlerin ve kısa zincirli yağ asitlerinin hem değiştirilmesinde hem de emiliminde bağırsak mikrobiyotası kritik rol oynamaktadır (Rinninella ve ark., 2019). Ek olarak, mikrobiyota bağırsaktaki patojen bakterilerin yerleşmesini engelleyerek bağışıklık sisteminde önemli bir görev üstlenmektedir. Bağırsak mikrobiyotası, bu işlevi bakteriyosinler salgılayarak ve aynı zamanda bağırsak epitel dokusunun bütünlüğüne katkıda bulunarak yerine getirmektedir. Bununla birlikte, mikrobiyotayı oluşturan bakteriler bağırsak pH'nın düzenlenmesinde de rol almaktadır (Khosravi & Mazmanian, 2013).

Son yıllarda bağırsak mikrobiyotasının konağın fizyolojisi ve patolojisinde önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar hızla artmaktadır (Becattini ve ark., 2016; Gurung ve ark., 2020; Li ve ark., 2020; B. Yang ve ark., 2019; Zarrinpar ve ark., 2018). Günümüzde bağırsak mikrobiyotası oldukça güncel ve literatürde önemi gittikçe artmakta olan bir alandır (Şekil 1.1.). Bağırsak mikrobiyotası doğrudan tip 2 diyabet (T2D), obezite gibi hastalıkları etkileyebildiği gibi (Gurung ve ark., 2020), birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların etkilerini ve advers etkilerini de değiştirebilmektedir (Pryor ve ark., 2019). Özellikle diyabet (Everard & Cani, 2013; Li ve ark., 2020), obezite (Gauffin Cano ve ark., 2012) ve kanserde (Francescone ve ark., 2014; Schwabe & Jobin, 2013) mikrobiyota hem teşhisin hem de

tedavinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Mikrobiyotanın gemsitabin, oksaliplatin ve 5-florourasil gibi birçok ilacın etkisini değiştirebildiği (Pryor ve ark., 2019), metformin (De La Cuesta-Zuluaga ve ark., 2017) gibi bazı ilaçların da etkilerinin doğrudan mikrobiyota ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.



Şekil 1.1. 2000-2022 yılları arasında mikrobiyota ile ilgili yapılan yıllık yayın sayıları.

Veri Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) üzerinden ilgili anahtar kelimeler aranarak bulunmuştur. intestinal microbiota, gut microbiota, intestinal flora, gut flora, intestinal microflora, gut microflora, intestinal microbiome, gut microbiome (National Library of Medicine, Pubmed, 2023)

Antibiyotikler uzun yıllardır kullanılan en önemli ilaç gruplarından biridir. Antibiyotiklerin patojen bakterileri öldürürken bağırsak mikrobiyotasındaki konakla uyum içinde yaşayan diğer bakterileri de öldürdüğü bilinmektedir. Bu durum özellikle oral yolla kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerde daha da önem kazanmaktadır. Antibiyotiğe bağlı mikrobiyota hasarının diyabet, obezite, astım, depresyon gibi birçok hastalıkta rol oynadığı gösterilmiştir (Gurung ve ark., 2020; Zarrinpar ve ark., 2018).

Levofloksasin, siprofloksasin, ampisilin, amoksisilin, metronidazol ve neomisin gibi birçok antibiyotiğin tek başına veya kombine kullanımda kan glukoz seviyelerini etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2020; Rodrigues ve ark., 2017; Zarrinpar ve ark., 2018). Hatta bazı vaka raporlarında levofloksasine bağlı hipogliseminin hayatı etkileyecek seviyelere gelebileceği gösterilmiştir (Friedrich & Dougherty, 2004; Garber ve ark., 2009; Micheli ve ark., 2012). Bu etkilerin tam mekanizması henüz aydınlatılmamış olmakla birlikte, bir çalışmada bağırsak mikrobiyotasındaki Firmicutes ve Bacteroidota (eski

ismi Bacteroidetes) türü bakterilerde azalma ve Proteobacteria türü bakterilerde ise artış ile ilişkilendirilmiştir (Zarrinpar ve ark., 2018).

Lactobacillus plantarum normal insan mikrobiyotasında bulunan Firmicutes şubesine ait gram pozitif bir basildir. *Lactobacillus* türü bakterilerin glukoz metabolizması ve T2D ile ilişkisi bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu tür bakteriler genellikle T2D hastalarında artmış oranlarda bulunmaktadır (Gurung ve ark., 2020). *Lactobacillus plantarum* türü bakteriler probiyotik olarak sıkça kullanılmaktadır (De Vries, 2006). Bu tür bakterilerin probiyotik olarak kullanımı T2D, obezite, astım gibi birçok hastalıkta olumlu etkiler göstermektedir (Balakumar ve ark., 2018; Lan ve ark., 2022). Ayrıca *Lactobacillus plantarum*'un glukoz metabolizması ile ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (Balakumar ve ark., 2018; Lee ve ark., 2018).

Neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerinin farklı antibiyotiklerle kombine olarak kan glukoz seviyelerini etkileyebildiği gösterilmiş olup, bu antibiyotiklerin tek başına kullanımda kan glukoz seviyesi ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi yeterince araştırılmamıştır. Çalışmamızda bu antibiyotiklere maruziyetin kan glukoz seviyesi ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Antibiyotiklerin en çok görülen yan etkilerinden biri olan diyareye karşı birçok probiyotikte olduğu gibi *Lactobacillus plantarum* türleri de olumlu etki göstermektedir (Szymański ve ark., 2008). Ancak *Lactobacillus plantarum* probiyotiklerinin antibiyotiğe bağlı hipoglisemi ve glukoz metabolizmasındaki değişiklikler üzerine etkisi ile ilgili literatürde yeterli çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerine maruziyetin kan glukoz seviyesini ve vücut ağırlığını etkileme oranının ölçülmesi, bu etkiyle birlikte görülen mikrobiyotadaki değişimler ve probiyotik bakterilerin bu değişimi önleme potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın sonunda “Neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerinin ratlarda ayrı ayrı içme suyu aracılığı ile verilmesi kan glukoz seviyelerini düşürür mü?”, “Neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerinin ratlarda ayrı ayrı içme suyu aracılığı ile verilmesi vücut ağırlıklarını değiştirir mi?”, “Neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotiklerinin ratlarda ayrı ayrı içme suyu aracılığı ile verilmesi bağırsak mikrobiyotası üzerinde nasıl değişikliklere neden olur?”, “*Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin ratlarda oral gavaj yolu ile verilmesi kan glukoz seviyesi, vücut ağırlığı ve

bağırsak mikrobiyotası üzerinde hangi değişikliklere neden olur?”, “*Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotikleri ile her biriyle ayrı ayrı kombine olarak kullanılması kan glukoz seviyesi, vücut ağırlığı ve bağırsak mikrobiyotası üzerinde hangi değişikliklere neden olur?” sorularının cevaplanması amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağırsak Mikrobiyotasını Oluşturan Bakteriler

Bağırsak mikrobiyotası çoğunlukla zorunlu anaerobik bakterilerden oluşmaktadır. Bunların yanında fakültatif anaerobik ve aerobik bakteriler de bulunmaktadır (Sekirov ve ark., 2010). İnsan bağırsak mikrobiyotasında en çok bulunan bakteri şubeleri Bacteroidota ve Firmicutes'tir. Bununla birlikte Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria ve Fusobacteria şubeleri de daha düşük oranlarda bulunmaktadır (Rinninella ve ark., 2019). Bağırsak mikrobiyotasındaki bu bakteri şubelerine bağlı tür sayısının 500-1000 civarı olduğu düşünülmektedir (Xu & Gordon, 2003). Bu bakteri türlerinin en yaygın bulunanları tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. İnsan bağırsağında bulunan başlıca bakteri türleri

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Faecalibacterium	Faecalibacterium prausnitzii
				Clostridium	Clostridium spp.
			Lachnospiraceae	Roseburia	Roseburia intestinalis
			Ruminococcaceae	Ruminococcus	Ruminococcus faecis
	Negativicutes	Veillonellales	Veillonellaceae	Dialister	Dialister invisus
	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus reuteri
			Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus faecium
		Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus leei
	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	Sphingobacterium spp.
	Bacteroidota	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides
Bacteroides vulgatus					
Bacteroides uniformis					
Tannerellaceae				Tannerella	Tannerella spp.
				Parabacteroides	Parabacteroides distasonis
				Rikenellaceae	Alistipes
Prevotellaceae	Prevotella	Prevotella spp.			
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	Bifidobacterium longum Bifidobacterium bifidum
	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Atopobium	

Tablo 2.1. İnsan bağırsağında bulunan başlıca bakteri türleri (Devamı)

Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli
				Shigella	Shigella flexneri
	Delta proteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	Desulfovibrio	Desulfovibrio intestinalis
				Bilophila	Bilophila wadsworthia
	Epsilon proteobacteria	Campylobacterales	Helicobacteraceae	Helicobacter	Helicobacter pylori
Fusobacteria	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium	Fusobacterium nucleatum
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Akkermansiaceae	Akkermansia	Akkermansia muciniphila

(Rinninella ve ark., 2019)

2.2. Bağırsak Mikrobiyotası ve Glukoz Metabolizması İlişkisi

Yapılan çalışmalar bağırsak mikrobiyotası ve konağın glukoz metabolizması arasında çok değişkenli bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Mikrobiyotadaki bakterilerin oranları hem glukoz metabolizmasının normal sürecinde hem de T2D gibi bazı hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Ancak mikrobiyotanın kompleks yapısının sonucu olarak farklı çalışmalar farklı bakteri türleri ile ilgili birbirleriyle çelişkili sonuçlar da vermektedir.

Bakterisiz farelerle yapılan çalışmalar göstermektedir ki bağırsak mikrobiyotası bulunmayan hayvanlarda kan glukoz seviyeleri daha düşük seyretmektedir (Giri ve ark., 2019). Bununla birlikte mikrobiyotasına antibiyotikler ile zarar verilmiş farelerde de benzer şekilde kan glukoz seviyeleri azalmaktadır (LaGamma ve ark., 2021; Zarrinpar ve ark., 2018). Bu azalış bağırsak bakterilerinin rekolonizasyonu ile geri döndürülebilmektedir. 2021 yılında yapılan bir çalışmada bu düzelmenin *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* türü bakterilerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (LaGamma ve ark., 2021).

Antibiyotiğe bağlı mikrobiyota hasarı ile fareler üzerinde yapılan bir çalışmada glukoz metabolizmasındaki değişikliklerin mekanizması araştırılmıştır. 5 antibiyotiğin kombine olarak verildiği bu çalışmada bağırsaktaki Bacteroidota ve Firmicutes türlerinde azalma, kan glukoz seviyesi ve glukoz tolerans testi sonuçlarında azalma ve insülin hassasiyetinde artış görülmüştür. Bu etki bağırsaktaki kısa zincirli yağ asitlerinin (özellikle bütirat) ve sekonder safra asitlerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte çekal gen ekspresyonu ve bağırsak glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) sinyalizasyonunda da değişimler görülmüştür. Bağırsaktaki kısa zincirli yağ asitlerinin azalması bağırsak bakterilerinin enerji kaynağı olarak kısa zincirli yağ asitlerinin kullanımını azaltmakta, glukozun kullanımını artırmaktadır.

Çalışma bağırsak bakterilerinin konağın glukoz metabolizması ile ilişkisinin temelinin kolonosit metabolizmasındaki bu değişim olduğunu göstermiştir (Zarrinpar ve ark., 2018).

Antibiyotiğe bağlı mikrobiyota hasarı ile yapılan bir başka çalışmada ampisilin, metronidazol, neomisin ve vankomisin kullanılmıştır. Bu antibiyotikler hem tek başına hem de kombine olarak 4 hafta boyunca içme suyu aracılığı ile verilmiştir. Antibiyotik verilen bütün gruplarda kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür. Bununla birlikte *Akkermansia muciniphila* türü bakterilerle açlık glukoz seviyeleri ve bir safra asidi reseptörü olan farsenoid X reseptörü (FXR) gen ekspresyonu arasında etkileşim görülmüştür. Ayrıca *Bacteroides uniformis* türü bakteriler karaciğer FXR ile pozitif, glukoz 6-fosfataz ile negatif korelasyon göstermiştir (Rodrigues ve ark., 2017).

Bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması arasındaki ilişkinin gösterildiği bazı çalışmalar da T2D modelleri üzerinde yapılan çalışmalardır. T2D'li insanlarda ve hayvan modellerinde yapılan birçok çalışmada bağırsaktaki bazı bakteri türlerinde artış veya azalma görülmektedir. Bu konudaki çalışmalar hem bağırsaktaki bakterilerin tip 2 diyabetin progresyonunu etkilediğini hem de hastalığın bakterileri etkilediğini göstermektedir (Crommen & Simon, 2018; Gurung ve ark., 2020; He ve ark., 2020; Sharma & Tripathi, 2019).

Bağırsak mikrobiyotası ile glukoz metabolizması arasındaki ilişkinin mekanizmalarından birisi bağırsak geçirgenliğidir. Mikrobiyota bağırsak geçirgenliğini kontrol eden temel etkidir. Bağırsak mikrobiyotasının azalması bağırsakta düşük seviyeli bir enflamasyona ve bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olur. Bu durumun tip 1 diyabet gibi birçok otoimmün hastalık üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Sharma & Tripathi, 2019).

Yüksek yağlı diyetle beslenen bakterisiz fareler ve normal fareler ile yapılan çalışmalar, metabolik ve immünolojik profillerin, diyet türünden bağımsız olarak mikrobiyal çeşitlilik ve bileşime bağlı olduğunu göstermiştir. Aynı genotipe ve benzer beslenme düzenine sahip fareler, bağırsak mikrobiyom profillerine bağlı olarak farklı glukoz metabolizma modellerine (hiperglisemik veya hipoglisemik) sahip olabilmektedir. Bu bulgular bağırsak mikrobiyotası ile metabolik işlevsellik arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır (Sharma & Tripathi, 2019).

Bağırsak mikrobiyotası ile konağın glukoz metabolizması arasındaki bir ilişki de artan plazma lipopolisakkarit seviyeleridir. T2D hastalarında yapılan çalışmalar bağırsak geçirgenliğinin arttığını göstermektedir. Beslenme ile alınan yağ asitleri toll benzeri reseptör (TLR)-2 ve TLR-4 yolaklarını aktive ederek lipopolisakkaritlerin bağırsaktan emilimini artırmakta ve insülin direncini tetiklemektedir (Sharma & Tripathi, 2019).

Bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması arasındaki ilişkinin önemli bir mekanizması da bağırsak bakterileri tarafından anaerobik fermantasyon ile üretilen kısa zincirli yağ asitleridir (SCFA) (asetat, propiyonat, bütirat). SCFA enerji metabolizmasını düzenlemenin yanı sıra bağırsak ortamının homeostazisini korumada da önemli bir rol oynar. SCFA vücutta pankreas alfa ve beta hücreleri, bağırsak enteroendokrin hücreleri ve adipoz doku gibi birçok yerde bulunan serbest yağ asidi reseptörlerini (FFAR2, FFAR3) aktive etmektedir. Bu aktivasyon birçok metabolik aktiviteyi etkilemektedir. Örneğin FFAR2 reseptörlerinin insülin salınımını tetikleyebildiği gösterilmiştir (He ve ark., 2020).

2.3. Probiyotiklerin Kan Glukoz Seviyesi Üzerindeki Etkileri

Bağırsak mikrobiyotası ile glukoz metabolizması arasındaki ilişkide etkili olan bakteri türleri henüz kesin olarak bilinmemektedir. Ancak birçok türün kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

T2D'e karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilen bakteri türlerinden en çok karşımıza çıkan *Bifidobacterium* türleridir. Birçok çalışmada T2D ve bu tür bakteriler arasında negatif korelasyon gösterilmiştir (Candela ve ark., 2016; Sedighi ve ark., 2017). Bu cinse ait bazı bakteri türlerinin (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. pseudocatenulatum*, *B. breve*) probiyotik olarak verilmesinin de glukoz toleransını artırdığı gösterilmiştir (Gurung ve ark., 2020).

T2D'e karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilen bir diğer bakteri cinsi de *Bacteroides* türleridir. Bu türlerin bağırsaktaki oranları ile T2D arasında negatif korelasyon bulunmaktadır. *Bacteroides intestinalis* ve *Bacteroides vulgatus* türleri T2D'li hastaların bağırsak mikrobiyotasında daha az miktarda bulunmaktadır. T2D'li fareler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda *Bacteroides acidifaciens* ve *Bacteroides uniformis* türü bakterilerin probiyotik olarak verilmesinin insülin direncini ve glukoz toleransını düzenlediği gösterilmiştir (Gauffin Cano ve ark., 2012; J. Y. Yang ve ark., 2017).

Sağlıklı mikrobiyotada bulunan bir diğer bakteri türü de *Akkermansia muciniphila*'dır. Bu tür bakterilerin glukoz metabolizması üstündeki olumlu etkileri hem hayvan hem de insan çalışmalarında gösterilmiştir. *Akkermansia muciniphila* türü bakterilerin bağırsak mikrobiyotasında daha fazla bulunması daha düşük kan glukoz seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Everard & Cani, 2013; Zhang ve ark., 2013).

Probiyotik olarak sıkça kullanılan bir diğer tür ise *Lactobacillus plantarum*'dur. Gram pozitif bir basil olan bu tür bakterilerin probiyotik olarak kullanımı T2D modellerinde kan glukoz seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Balakumar ve ark., 2018; Lee ve ark., 2018). Bu sonuçlardan farklı olarak T2D hastalarında yapılan bazı çalışmalar *Lactobacillus* türü bakterilerin bu kişilerin bağırsağında daha yüksek oranlarda bulunduğunu göstermiştir (Candela ve ark., 2016; Gurung ve ark., 2020).

2.4. Antibiyotiklerin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri

Antibiyotiklerin bağırsak bakterileri üzerindeki etkileri uzun yıllardır bilinmektedir. Antibiyotikler kullanım dozuna ve süresine bağlı olarak mikrobiyotanın doğal kompozisyonunda bulunan bakterilerden kendi etki spektrumu dahilindeki bazıları öldürebilmektedir. Bununla birlikte miktarı az olan bazı fırsatçı bakterilerin de oranlarını artırabilmektedir (Konstantinidis ve ark., 2020).

Antibiyotiklerin mikrobiyota üzerindeki etkileri sadece kullanıldıkları süre ile sınırlı kalmayıp, sonrasında da uzun süre devam edebilmektedir. Bir çalışma, 1 hafta veya daha az süreyle antibiyotik tedavisi gören sağlıklı gönüllülerin, bakteri florası üzerindeki etkilerinin tedavi sonrası 6 ay ile 2 yıl arasında devam edebildiği gösterilmiştir. Bu etkiler arasında belirli türlerin oranlarında azalma, antibiyotiklere dirençli suşların ortaya çıkması ve antibiyotik direnç genlerinin artışı bulunmaktadır (Becattini ve ark., 2016).

Çalışmamızda kullanılan neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotikleri için hem tek başına hem de kombine olarak kullanımda bağırsak mikrobiyotasına etkileri ile ilgili çalışmalar aşağıdaki başlıklarda verilmiştir.

2.4.1. Neomisinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri

Neomisin, *Streptomyces fradiae* bakterisi tarafından doğal olarak üretilen aminoglikozid grubu bir antibiyotiktir. Gastrointestinal yoldan emilimi yok denecek kadar azdır (%3). Bu nedenle başka antibiyotiklerle kombine olarak kolorektal cerrahi öncesinde

profilaktik olarak kullanımı vardır. Ayrıca bağırsakta bakterilerin fazla artması durumunda da kullanılabilir (Uptodate, 2023).

Neomisin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri birçok çalışmada başka antibiyotikler ile kombine olarak incelenmiştir. Bulunan kaynaklarda neomisin tek başına kullanımda bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2021 yılında yapılan bir çalışmada vankomisin (0.5 mg/ml), neomisin (1 mg/ml) ve ampicilin (1 mg/ml) dozlarında kombine olarak içme suyuna eklenmiştir. 16 günlük içme suyu aracılığı ile maruziyetin sonunda Shannon indeksine göre bağırsaktaki bakteri çeşitliliği azalmıştır. Bununla birlikte şube düzeyinde Actinobacteria ve Bacteroidota türü bakterilerde azalma; Firmicutes, Proteobacteria ve Tenericutes türü bakterilerde ise artış görülmüştür (Keogh ve ark., 2021).

2021 yılında yapılan farklı bir çalışmada düşük glisemik diyetli beslenen farelerin normal yemeklerinin içine 320mg/kg ampicilin 640mg/kg neomisin eklenmiştir. 15 ay boyunca bu şekilde beslenen farelerde deney sonunda Shannon indeksine göre bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliği azalmıştır. Bununla birlikte şube seviyesinde Firmicutes ve Actinobacteria türü bakterilerde azalma, Bacteroidota ve Proteobacteria türü bakterilerde ise artış görülmüştür (Castaneda ve ark., 2021).

2.4.2. Metronidazolün bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri

Metronidazol uzun süredir klinikte sıkça kullanılan protozoa, gram pozitif ve gram negatif anaerobik bakterilere karşı etkili bir ilaçtır. Çoğunlukla bağırsak ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Löfmark ve ark., 2010).

2022 yılında Girdhar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metronidazolün kan glukoz seviyelerinde neden olduğu düşüşte bağırsak mikrobiyotasının etkisi de araştırılmıştır. Bunun için metronidazol verilen farelerin mikrobiyotaları bakterisiz farelere ekilmiş ve GLP-1, gastrik inhibitör peptid (GIP), kolesistokinin, peptid YY, leptin ve 4 farklı enteroendokrin hormonun plazma seviyelerine bakılmıştır. Bunun sonucunda alıcı farelerin hormon seviyelerinde donör farelere çok benzeyen değişimler görülmüştür (Girdhar ve ark., 2022).

2.4.3. Florokinolon grubu antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri

Florokinolon grubu antibiyotikler hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Günümüzde klinikte en çok kullanılanları siprofloksasin, moksifloksasin ve levofloksasindir.

2012 yılında yapılan bir çalışmada farelere günlük 65mg/kg dozda levofloksasin 10 gün boyunca verilmiştir. Deney başında, 3. gün, 10. Gün ve antibiyotik bırakıldıktan 7 gün sonra olmak üzere 4 kere gaita örnekleri alınmış ve PCR (polymerase chain reaction) ve jel elektroforez ile mikrobiyota çeşitliliği incelenmiştir. Deney sonunda bütün gruplarda mikrobiyotadaki gen çeşitliliğinin arttığı bulunmuştur. *Prevotella amni*, *Porphyromonas uenonis*, *Bacteroides coprophilus*, *Streptococcus sanguinis*, *Clostridium butyricum* ve *Leptotrichia hofstadii* türlerinin baskın türler olduğu görülmüştür (Li Xin-Li, 2012).

2020 yılında yapılan bir çalışmada *Escherichia coli* enfeksiyonu oluşturulan ratlara 3 günlük 100mg/kg dozda levofloksasin tedavisi uygulanmıştır. Deney sonunda mikrobiyota kompozisyonları 16S rRNA sekanslaması ile analiz edilmiştir. Deney sonunda kontrol grubunda Bacteroidota şubesindeki bakterilerin toplam mikrobiyotadaki oranı %65-80 düzeyindeyken, levofloksasin verilen ratlarda bu oran %1-2 seviyelerine düşmüştür. Firmicutes şubesindeki bakteriler ise %98 üzerinde baskın duruma geçmiştir (Liu ve ark., 2020).

2.4.4. Kombine antibiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri

2018 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmada kombine antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması üzerindeki etkisi incelenmiştir (Zarrinpar ve ark., 2018). Çalışmada ampisilin (100 mg/kg), vankomisin (50 mg/kg), metronidazol (100 mg/kg), neomisin (100 mg/ kg) ve amfoterisin B (1 mg/kg) dozda günde 2 kere oral gavaj ile 13 gün süreyle verilmiştir. Çalışmada deney başında % 65-70 seviyesinde olan Firmicutes türü bakterilerin oranı deney sonunda % 10 seviyelerine kadar gerilemiştir. Bacteroidota türü bakteriler ise % 25 seviyelerinden % 1'in altına kadar düşmüştür. Bununla birlikte deney başında çok düşük miktarlarda bulunan Proteobacteria türleri % 85 seviyelerine, Cyanobacteria türleri ise % 5 seviyelerine çıkmıştır.

2.5. Antibiyotiklerin Kan Glukoz Seviyesi Üzerindeki Etkileri

Yapılan çalışmalar birçok antibiyotiğin kombine veya tek başına kullanımda kan glukoz seviyelerini etkileyebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklere ait literatür taraması sonuçları alt başlıklarda verilmiştir.

2.5.1. Neomisin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri

11 prediyabetik hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, 10 gün boyunca günde 2 kere 500mg neomisin ve günde 3 kere 550mg rifaksimmin kombinasyonu verilmiştir. Deney sonunda yapılan oral glukoz tolerans testi sonucunda deney başına göre kan glukoz seviyelerinde azalma görülmüştür (Mathur ve ark., 2016).

2.5.2. Metronidazolün kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri

Metronidazolün tek başına farelerin normal yemeklerine katılarak glukoz metabolizması üzerindeki etkisi 2022 yılında yapılan bir çalışmada incelenmiştir. Normal beslenen farelerde yemeklerine metronidazol katıldığı zaman intraperitoneal glukoz tolerans testi ve intraperitoneal insülin tolerans testi sonuçlarında kan glukoz seviyelerinde anlamlı düşüş görülmüştür. Yüksek yağlı diyetle beslenen ve tip 2 diyabet semptomları gösteren farelere metronidazol verildiğinde de benzer sonuçlar görülmüştür (Girdhar ve ark., 2022).

2021 yılında yapılan bir çalışmada farelere 36 gün boyunca kombine olarak 1g/L metronidazol ve 0,2 g/L siprofloksasin verilmiştir. Deney sonunda yapılan glukoz tolerans testinde antibiyotik verilen farelerde kan glukoz seviyeleri daha düşük bulunmuştur (Meier ve ark., 2021).

2.5.3. Florokinolon grubu antibiyotiklerin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri

Hem hayvanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar hem de klinikteki bazı vaka raporları florokinolon antibiyotiklerinin, özellikle de levofloksasinin kan glukoz seviyesi üzerinde etkileri olduğunu göstermektedir.

2021 yılında 13 çalışmanın derlenmesi ile yapılan bir literatür taramasında gatifloksasin, siprofloksasin, moksifloksasin ve levofloksasinin hipoglisemi ve hiperglisemi ile ilişkilendirildiği çalışmalar incelenmiştir. Buna göre diyabetik hastalarda 579 kişide levofloksasine bağlı hipoglisemi görülürken, 186 kişide levofloksasine bağlı hiperglisemi görülmüştür. Diyabetik olmayan hastalarda ise 15 kişide levofloksasine bağlı hipoglisemi görülürken, 40 kişide hiperglisemi görülmüştür (Althaqafi ve ark., 2021).

2006 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmada enoksasin, lomefloksasin, gatifloksasin, siprofloksasin ve levofloksasinin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 5 saatlik açlık sonrasında farelerde, enoksasin, lomefloksasin veya gatifloksasinin intraperitoneal uygulamasıyla kan glukoz seviyelerinin azaldığı görülmüştür (50 mg/kg). Bu florokinolonların daha düşük bir dozu (5 mg/kg), ayrıca glukoz yüklemesi yapılan farelerde de kan glukoz seviyelerini düşürmüştür. Siprofloksasin ve levofloksasinin ise ne açlık durumundaki farelerde ne de glukoz yüklemesi yapılan farelerde bu seviyeleri düşürmediği görülmüştür. Bu sonuçlar, her bir florokinolonun bireysel bir hipoglisemik etkisinin olduğunu ve yemeklerden sonra florokinolon uygulamasının daha düşük dozlarda dahi kan glukoz seviyelerini azaltabileceğini düşündürmektedir (Hori ve ark., 2006).

Florokinolonların hipoglisemiye neden olan mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte, bazı *in vitro* ve hayvan modeli çalışmaları, florokinolonların pankreas hücrelerinden insülin salınımını etkileyebileceğini göstermektedir. Pankreatik β -hücrelerinde bulunan adenosin trifosfat duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanalları, plazma glukoz seviyelerini algılama ve normal glukoz seviyesini korumak için insülin salınımını tetiklemede önemli bir rol oynar (Koster et. al. 2005). *In vitro* çalışmalar, florokinolonların bu kanalı bloke ettiğini ve bunun sonucunda membran depolarizasyonuna yol açarak kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum akışında artışa ve ardından insülin salınımının artmasına neden olduğunu öne sürmektedir (Maeda ve ark., 2005.; Saraya ve ark., 2004).

Florokinolonların hipoglisemiye neden olan mekanizmaları üzerinde bunların tersini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin diğer florokinolonların aksine K_{ATP} kanalları üzerinde norfloksasin ve levofloksasin çok zayıf etkilidir. Buna rağmen bu florokinolonlar da ciddi hipoglisemilere neden olmaktadır. Bununla birlikte birçok vakada florokinolonlar ilk dozda değil, tekrar eden dozlar sonrasında hipoglisemik etki göstermektedir (Ghaly ve ark., 2009). Bu sonuçlar florokinolonların hipoglisemiye neden olan potansiyel etki mekanizmaları üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

2.5.4. Kombine antibiyotiklerin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri

2018 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmada kombine antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması üzerindeki etkisi incelenmiştir (Zarrinpar ve ark., 2018). Çalışmada ampisilin (100 mg/kg), vankomisin (50 mg/kg), metronidazol (100 mg/kg), neomisin (100 mg/kg) ve amfoterisin B (1 mg/kg) dozda günde 2 kere oral gavaj ile

13 gün süreyle verilmiştir. Çalışma sonunda antibiyotik verilen grupta açlık kan glukoz seviyeleri ortalama %30 azalmıştır. 4 saatlik açlık kan glukoz seviyesi ortalama 135 mg/dL'den 100 mg/dL'ye düşerken, 16 saatlik açlık kan glukoz seviyesi 100 mg/dL'den 75 mg/dL seviyelerine düşmüştür. Bununla birlikte oral glukoz tolerans testinde kontrol grubunda kan glukoz seviyeleri 230 mg/dL seviyelerine çıkarken, antibiyotik verilen grupta 120 mg/dL seviyelerinde kalmıştır. Ayrıca antibiyotik verilen grupta intraperitoneal verilen insülin sonucunda kan glukoz seviyeleri kontrol grubuna göre daha fazla düşmüştür, yani insülin hassasiyeti artmıştır. Bu etkiler bağırsaktaki kısa zincirli yağ asitlerinin ve sekonder safra asitlerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte çekal gen ekspresyonu ve bağırsak (GLP-1) sinyalizasyonunda da değişimler görülmüştür. Bağırsaktaki kısa zincirli yağ asitlerinin azalması bağırsak bakterilerinin enerji kaynağı olarak kısa zincirli yağ asitlerinin kullanımını azaltmakta, glukozun kullanımını artırmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Türü

Araştırma bir hayvan deneyi olarak planlanmıştır. Çalışmada 56 adet dişi Wistar albino türü rat kullanılmıştır. Araştırmanın bütün aşamaları Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (KONÜDAM) yapılmıştır.

3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Çalışmada 8 deney grubu bulunmaktadır. Her grupta 7 hayvan olmak üzere toplam 56 adet yetişkin dişi Wistar albino türü rat kullanılmıştır. Deney boyunca hayvanların bakımı KONÜDAM tarafından sağlanmıştır. Hayvanlar kan glukoz ölçümlerinden önceki 6 saatlik açlık dışında ad libitum olarak beslenmiştir.

Birinci gruptaki (kontrol) (KONT) hayvanlara deney süresince normal içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

İkinci gruptaki (kontrol probiyotik) (KONT-PB) hayvanlara deney süresince normal içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik içerisinde 1 milyar CFU (Colony forming unit) *Lactobacillus plantarum* verilmiştir.

Üçüncü gruptaki (neomisin) (NEO) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda neomisin içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

Dördüncü gruptaki (neomisin probiyotik) (NEO-PB) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda neomisin içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik içerisinde 1 milyar CFU *Lactobacillus plantarum* verilmiştir.

Beşinci gruptaki (metronidazol) (MTZ) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda metronidazol içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

Altıncı gruptaki (metronidazol probiyotik) (MTZ-PB) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda metronidazol içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik içerisinde 1 milyar CFU *Lactobacillus plantarum* verilmiştir.

Yedinci gruptaki (levofloksasin) (LVX) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda levofloksasin içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

Sekizinci gruptaki (levofloksasin probiyotik) (LVX-PB) hayvanlara deney süresince 1g/L oranda levofloksasin içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik içerisinde 1 milyar CFU *Lactobacillus plantarum* verilmiştir.

Çalışmanın, verilerin toplandığı laboratuvar aşaması 11 gün sürmüştür. Deney süresince hayvanların içme suyu tüketimleri ve genel sağlık durumları günlük olarak kontrol edilmiş ve vücut ağırlıkları deney başı ve sonunda 2 defa ölçülmüştür. Antibiyotik ve oral gavaj uygulamaları ve kan glukoz seviyesi ölçümleri 10 gün boyunca yapılmıştır. 11'inci gün ise son kan glukoz seviyesi ölçümleri yapılmış ve gaita örnekleri toplanmıştır.

Çalışmada kullanılan metronidazol (CAS No: 443-48-1) ve neomisin sülfat (CAS No: 1405-10-3) Galenik Ecza'dan temin edilmiştir. Levofloksasin 500 mg tablet formunda beşeri tıbbi müstahzar olarak kullanılmıştır.

3.3. Verilerin Toplanması

3.3.1. Kan glukoz seviyesi ölçümleri

Deney süresince toplam 4 defa 3'er gün aralıkla (1. 4. 7. 11. Günler) lanset ile delinerek kuyruktan 2-3 damla kan alınmış ve mobil kan glukoz seviyesi ölçüm cihazı (Accu-Chek Active) ile açlık kan glukoz seviyeleri ölçülmüştür. Ölçümden 6 saat önce hayvanların yemleri kafeslerden alınmıştır. Kan glukoz seviyesi analizleri proje ekibi tarafından mobil kan glukoz seviyesi ölçüm cihazı ile KONÜDAM'da gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. Vücut ağırlığı ölçümleri

Deney başında ve deney sonunda toplam 2 defa bütün hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Ölçüm proje ekibi tarafından KONÜDAM'da gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Gaita örneklerinin alınması ve saklanması

Deney sonunda mikrobiyota analizi için hayvanların normal dışkılaması sonucu gaita örnekleri steril kürdan ile 2 ml cryo tüpler içine alınmıştır. Örneklerin üzerine absolüt etanol eklenmiştir ve DNA izolasyonuna kadar +4 °C derecede saklanmıştır.

3.3.4. DNA izolasyonu ve 16S rRNA sekanslaması

Gaita örneklerinden Total Genomik DNA İzolasyonu QIAamp PowerFecal DNA Kit (Cat No./ID: 12830-50) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Total DNA izolatlarından, 16S rRNA genlerinin V3-V4 hiper-değişken bölgesinin Bacteria-Archaea özgü barkodlu evrensel primerler (~468 bç) kullanılarak PCR (polimerase chain reaction) ile ampikon inşaları yapılmıştır.

TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG ve GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC primerleri kullanılmıştır.

Saflaştırılması tamamlanan 24 örneğin dizileme işlemi için kütüphane hazırlığına geçilmiştir. Her bir örneğin dizileme esnasında tanımlamasını sağlayan indeks primerler Illumina Ampikon Dizileme protokolünde belirtilen PCR koşullarında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan kütüphanelerin konsantrasyonları Qubit 4.0 Florometri ile ölçülüp eşit konsantrasyonlarda birleştirilerek dizileme öncesi son konsantrasyonu 10 pM olarak ayarlanmıştır. Birleştirilmiş bu kütüphane Illumina Miseq platformunda, 2 x 251 bç regeantı (V2- 500 flow cell) kullanılarak ileri ve geri yönlü okumalar (pair-end) olacak şekilde dizileme işlemi yapılmıştır.

Dizilerin kalite skorlarının kontrol edilmesi amacıyla FastQC v0.11.5 kullanılmıştır. FastQC profiline dayalı olarak ham dizi okumalarından adaptörler ve kalitesiz okumaları/dizileri çıkarmak için Trimmomatic-0.33 programı kullanılmıştır (Bolger ve ark., 2014). Bu aşamadan sonraki biyoinformatik analizler QIIME2 (Bolyen ve ark., 2019) pipeline ile gerçekleştirilmiştir. Kimerik dizilerin uzaklaştırılması QIIME2 içerisinde yer alan DADA2 eklentisi (Callahan ve ark., 2016) ile yapılmıştır. Sonrasında Moleküler Operasyonel Taksonomik Birimler QIIME2 içerisinde yer alan VSEARCH (Rognes ve ark., 2016) kullanılarak belirlenmiştir.

3.4. Sınırlılıklar

Çalışmada bütçe doğrultusunda her deney grubundan 3 hayvandan gaita örneği alınmış ve 16S rRNA sekanslaması yapılmıştır. Her deney grubundaki hayvanlar deney boyunca 3-2-2 adet olarak toplamda 3 kafeste tutulmuştur. Her deney grubundan gaita örneği için 3 hayvan belirlenirken her kafesten bir hayvan seçilmiştir.

3.5. Verilerin Analizi

Sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma istatistikleri verilmiştir. Sayısal değişkenlerin (ağırlık, glukoz) analizinde karma etki modelleri (linear mixed model) kullanılmıştır. 16s rRNA sekanslaması verilerinde negatif binomial veya poisson regresyon modelleri kullanılmıştır. Alfa ve beta çeşitlilik analizleri (Shannon, Bray-Curtis, Unifrac distance gibi indeksler) QIIME2 pipeline kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler için Jamovi 2.3.28 programı kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Deney süresince elde edilen bulgular vücut ağırlıkları, kan glukoz seviyeleri ve mikrobiyota verileri olarak 3 alt başlıkta incelenmiştir.

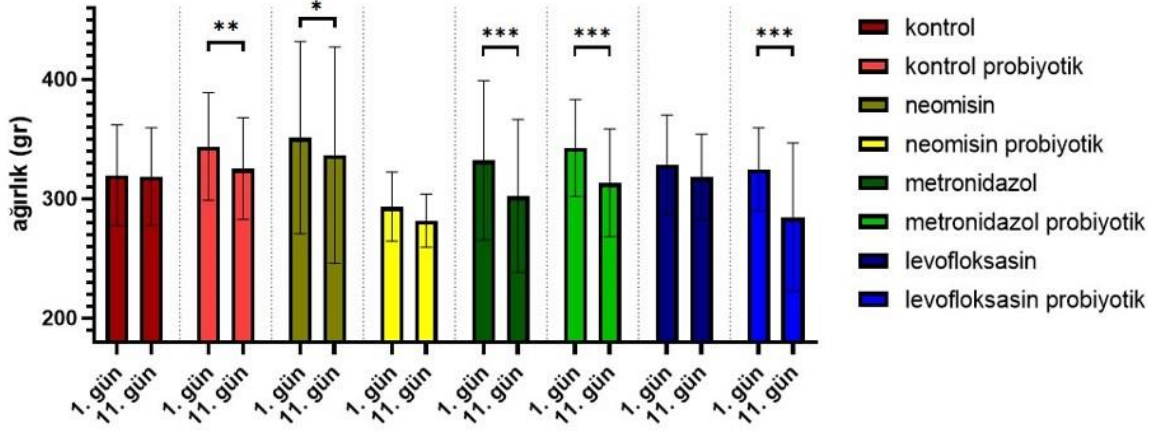
4.1. Vücut Ağırlıkları

Deney sonunda hayvanların vücut ağırlıkları kontrol grubu hariç bütün gruplarda azalmıştır (Tablo 4.1., Şekil 4.1.). Kontrol probiyotik, neomisin, metronidazol, metronidazol probiyotik ve levofloksasin probiyotik gruplarında istatistiksel olarak anlamlı vücut ağırlığında düşüş görülmüştür.

Tablo 4.1. Deney hayvanlarının deney başlangıcı ve sonundaki vücut ağırlıkları (gram)

Grup	1. gün		11. gün		Fark	p değeri	
	Ortalama	SD	Ortalama	SD			
Kontrol	320	42	319	41	-1,14	0,882	ns
Kontrol probiyotik	344	45	325	43	-18,52	0,002	**
Neomisin	351	81	337	91	-14,62	0,011	*
Neomisin probiyotik	294	29	282	22	-11,72	0,134	ns
Metronidazol	332	67	302	64	-29,86	<0,001	***
Metronidazol probiyotik	343	41	313	45	-29,29	<0,001	***
Levofloksasin	329	42	319	36	-10,21	0,169	ns
Levofloksasin probiyotik	325	35	285	62	-40,14	<0,001	***

ns: not significant (anlamlı değil); *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001

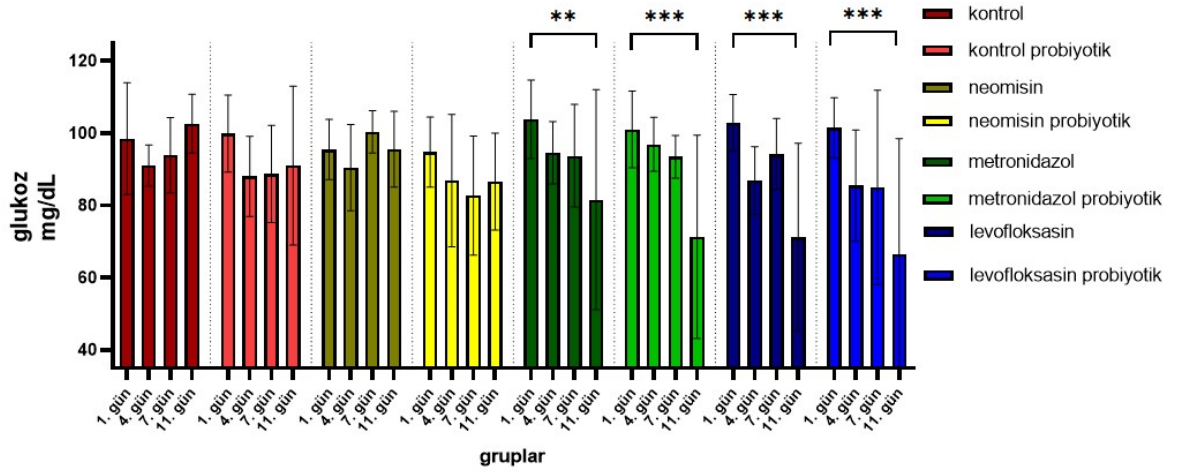


Şekil 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlıklarının deney başı ve sonundaki değerleri

ns: not significant (anlamlı değil); *: $p<0,05$; **: $p<0,01$; ***: $p<0,001$

4.2. Kan Glukoz Seviyeleri

Bütün hayvanların kan glukoz seviyeleri 1. 4. 7. ve 11. günlerde olmak üzere 4 kere ölçülmüştür. Şekil 4.2.'de bütün grupların günlere göre kan glukoz seviyesi değişimleri verilmiştir. Buradaki veriler her gruptaki hayvanların birinci günleri ve son günleri değerlendirilerek analiz edilmiştir. Deney sonunda kontrol, kontrol probiyotik, neomisin ve neomisin probiyotik gruplarında deney başındaki ölçümlere göre kan glukoz seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir. Metronidazol, metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında ise deney sonunda deney başına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı kan glukoz seviyesi azalması görülmüştür. *Lactobacillus plantarum* türü probiyotik verilen bütün gruplarda probiyotik verilmeyenlere göre kan glukoz seviyelerinde hafif bir düşüş görülürken bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.2. Deney gruplarının kan glukoz seviyelerinin günlere göre değişimi

ns: not significant (anlamli değil); *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Levofloksasin verilen gruplarda sadece deney sonunda değil, 4. ve 7. gün ölçümlerinde de kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür. Bütün grupların deney süresince ölçülen kan glukoz seviyeleri tablo 4.2.'de verilmiştir. Günlere göre kan glukoz seviyelerindeki değişimler ve istatistiksel anlamlılık değerleri ise tablo 4.3.'te verilmiştir. Buna göre levofloksasin probiyotik grubunda 4. 7. ve 11. günlerin hepsinde istatistiksel olarak anlamlı kan glukoz seviyesi düşüşü görülürken, levofloksasin grubunda 4. ve 11. günlerde anlamlı düşüş görülmüştür.

Tablo 4.2. Deney gruplarının günlere göre kan glukoz seviyesi ortalamaları (mg/dL)

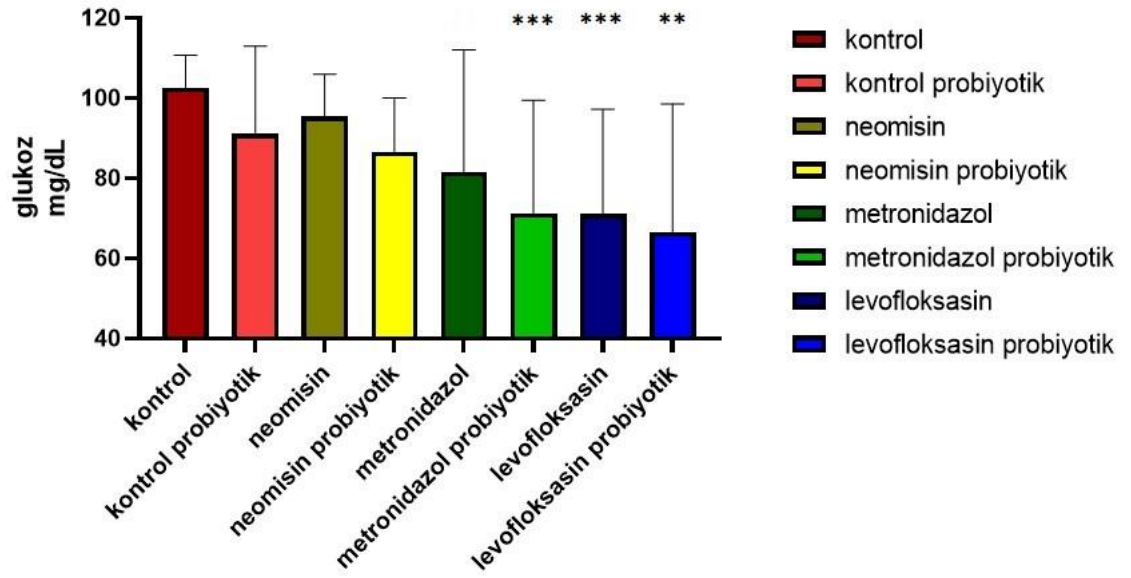
Grup	1. gün		4. gün		7. gün		11. gün	
	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD	Ortalama	SD
Kontrol	98	15	91	6	94	10	103	8
Kontrol probiyotik	100	11	88	11	89	13	91	22
Neomisin	95	8	90	12	100	6	96	10
Neomisin probiyotik	95	10	87	18	83	16	87	13
Metronidazol	104	11	95	9	94	14	82	30
Metronidazol probiyotik	101	11	97	7	93	6	71	28
Levofloksasin	103	8	87	9	94	10	71	26
Levofloksasin probiyotik	101	8	85	15	85	27	67	32

Tablo 1.3. Deney gruplarının günlere göre kan glukoz seviyesi değişimleri

Grup	Gün	Ortalama fark	p değeri	
Kontrol	1. ve 4. gün	-7,429	0,290	ns
	1. ve 7. gün	-4,571	0,515	ns
	1. ve 11. gün	4,143	0,555	ns
Kontrol probiyotik	1. ve 4. gün	-12,656	0,088	ns
	1. ve 7. gün	-11,989	0,106	ns
	1. ve 11. gün	-9,656	0,192	ns
Neomisin	1. ve 4. gün	-5,000	0,476	ns
	1. ve 7. gün	4,407	0,550	ns
	1. ve 11. gün	-0,426	0,954	ns
Neomisin probiyotik	1. ve 4. gün	-7,857	0,264	ns
	1. ve 7. gün	-12,000	0,089	ns
	1. ve 11. gün	-8,143	0,247	ns
Metronidazol	1. ve 4. gün	-9,286	0,187	ns
	1. ve 7. gün	-10,143	0,150	ns
	1. ve 11. gün	-22,286	0,002	**
Metronidazol probiyotik	1. ve 4. gün	-4,143	0,555	ns
	1. ve 7. gün	-7,571	0,281	ns
	1. ve 11. gün	-29,714	<0.001	***
Levofloksasin	1. ve 4. gün	-16,000	0,024	*
	1. ve 7. gün	-8,912	0,227	ns
	1. ve 11. gün	-31,912	<0.001	***
Levofloksasin probiyotik	1. ve 4. gün	-16,000	0,024	*
	1. ve 7. gün	-16,429	0,020	*
	1. ve 11. gün	-34,857	<0.001	***

ns: not significant (anlamlı değil); *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001

Şekil 4.3.'te bütün grupların deney sonu kan glukoz ölçümleri analiz edilmiştir. Bütün grupların verileri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Kontrol probiyotik, neomisin, neomisin probiyotik ve metronidazol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı kan glukoz seviyesi değişimi görülmemiştir. Metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında ise kontrol grubuna göre kan glukoz seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür.



Şekil 2.3. Deney gruplarının deney sonundaki kan glukoz seviyesi ortalamaları ve kontrol grubuna göre karşılaştırılması

ns: not significant (anlamlı değil); *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

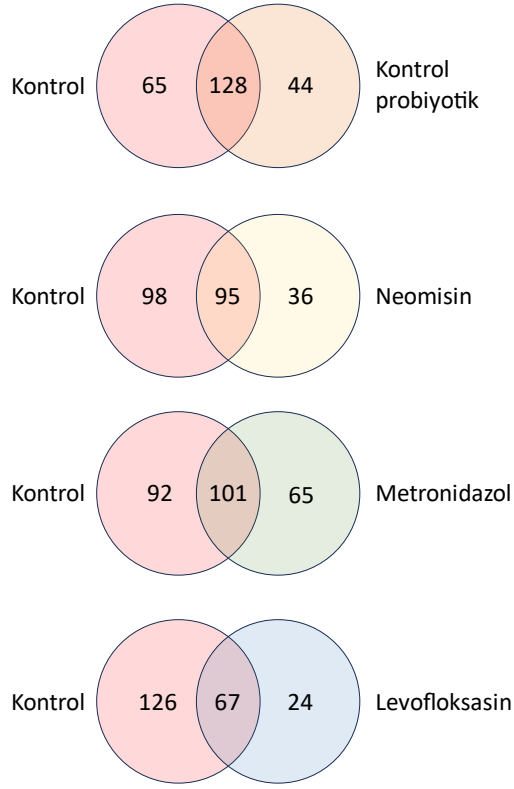
4.3. Mikrobiyota Analizleri

Mikrobiyota bulgularından gruplardaki artmış veya azalmış olarak görülen bakteri türleri bu başlıkta, alfa çeşitlilik ve beta çeşitlilik analizleri ise alt başlıklarda verilmiştir.

Bütün gruplara ait tespit edilen toplam OTU (operational taxonomic unit) sayısı tablo 4.4.'te verilmiştir. Ayrıca bazı grupların birbirleriyle ortak ve birbirinden farklı olan tür sayıları şekil 4.4.'te verilmiştir. Buna göre toplam OTU sayıları antibiyotik verilen bütün gruplarda azalmıştır. Bu azalış en fazla levofloksasin verilen gruplarda görülmüştür. Benzer şekilde kontrol grubuyla en az ortak OTU sayısı da levofloksasin grubunda görülmüştür.

Tablo 4.4. Deney gruplarının toplam OTU (Operational taxonomic unit) sayıları

Grup	Toplam OTU sayısı
Kontrol	193
Kontrol probiyotik	172
Neomisin	131
Neomisin probiyotik	134
Metronidazol	166
Metronidazol probiyotik	112
Levofloksasin	91
Levofloksasin probiyotik	97

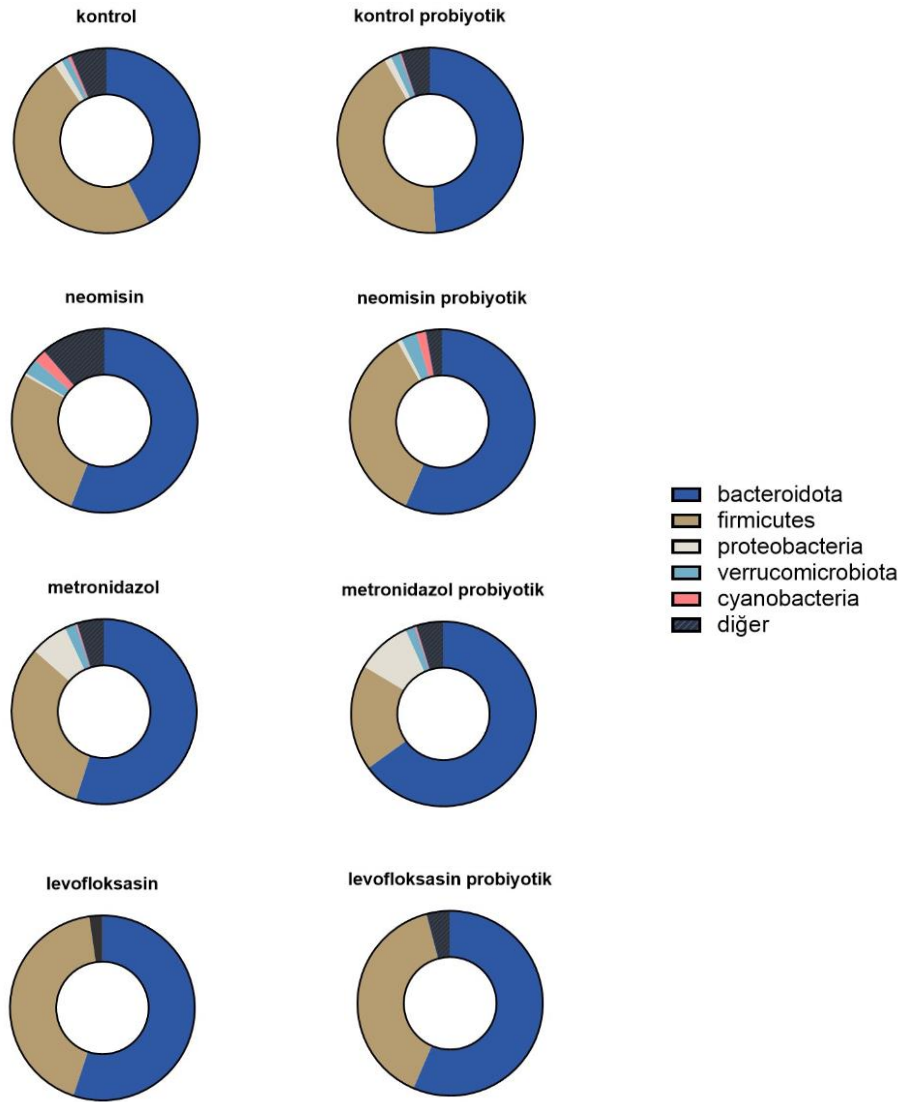


Şekil 4.4. Deney gruplarındaki ortak olan ve olmayan OTU (Operational taxonomic unit) sayıları

Bütün gruplara ait şube seviyesindeki mikrobiyotadaki bakteri oranları şekil 4.5.'te verilmiştir. Ayrıca bu oranlar sayısal olarak tablo 4.5.'te verilmiştir. Bütün gruplarda hakim olan bakteri şubeleri Firmicutes ve Bacteroidota olarak bulunmuştur. Diğer çok görülen bakteri türleri ise Proteobacteria, Verrucomicrobiota ve Cyanobacteria şubelerine ait bakterilerdir.

Bütün gruplarda hakim olan bakteriler Firmicutes ve Bacteroidota olmakla birlikte bu türlerin oranları kontrol grubuna kıyasla değişmiştir. Kontrol probiyotik grubunda Firmicutes türü bakterilerin oranında hafif bir azalma görülürken Bacteroidota türü bakterilerin oranında hafif bir artış görülmüştür. Neomisin ve neomisin probiyotik gruplarında Firmicutes türü bakterilerin oranı azalırken Bacteroidota türü bakterilerin oranı artmıştır. Firmicutes türü bakterilerdeki bu azalış neomisin grubunda daha şiddetli olurken, neomisin probiyotik grubunda daha az gerçekleşmiştir. Metronidazol ve metronidazol probiyotik gruplarında Firmicutes türü bakterilerin oranında önemli bir düşüş görülürken, Bacteroidota türü bakterilerin oranı artmıştır. Bu değişim metronidazol probiyotik grubunda daha şiddetli görülmüştür. Levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında grup ortalamalarına

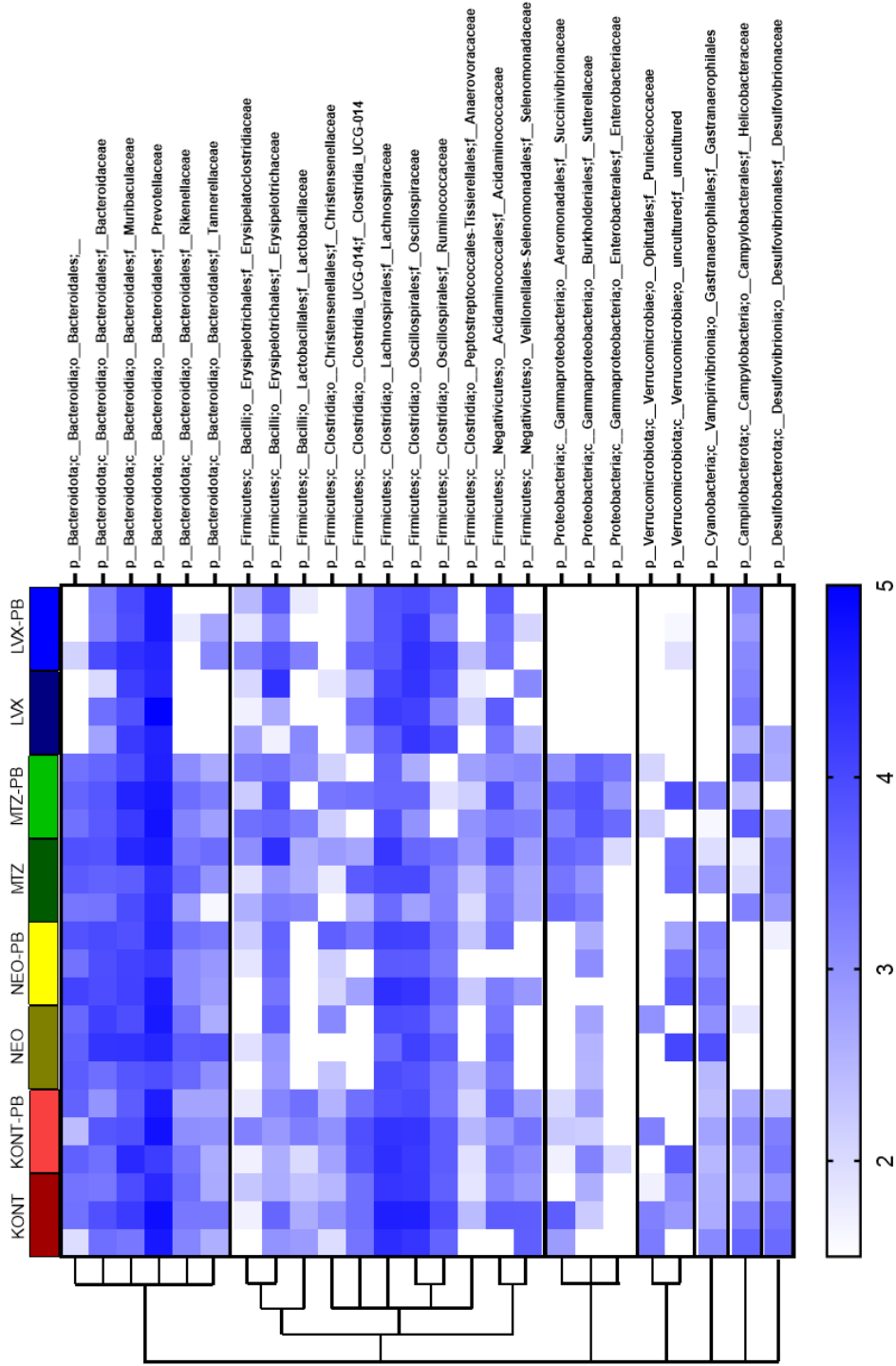
bakıldığı zaman Firmicutes türü bakterilerin oranında hafif bir düşüş, Bacteroidota türü bakterilerin oranında hafif bir artış görülmüştür. Ancak bu durum aynı gruptaki bazı hayvanlarda tam tersi şekilde de görülmüştür. Grup içindeki bu farklılık levofloksasin grubunda daha fazlayken levofloksasin probiyotik grubunda grup üyeleri birbirlerine daha yakın sonuçlar vermiştir.



Şekil 4.5. Deney gruplarının mikrobiyota kompozisyonları (Şubeye göre)

Tablo 4.5. Deney gruplarının şube seviyesindeki bakteri oranları

Grup	Bacteroidota	Firmicutes	Proteobacteria	Verrucomicrobiota	Cyanobacteria	Diğer
Kontrol	% 41-44	% 46-48	% 1-3	% 1-2	% 0-1	% 4-9
Kontrol probiyotik	% 40-57	% 37-46	% 1-2	% 1-3	% 0-1	% 3-6
Neomisin	% 41-69	% 20-34	% 0-1	% 0-7	% 1-5	% 1-23
Neomisin probiyotik	% 51-63	% 27-41	% 0-2	% 1-3	% 1-2	% 1-4
Metronidazol	% 48-62	% 20-37	% 4-9	% 0-3	% 0-1	% 1-7
Metronidazol probiyotik	% 63-66	% 17-19	% 9-10	% 0-4	% 0-1	% 1-6
Levofloksasin	% 38-70	% 27-57	% 0	% 0	% 0	% 1-3
Levofloksasin probiyotik	% 48-61	% 35-46	% 0	% 0	% 0	% 3-5

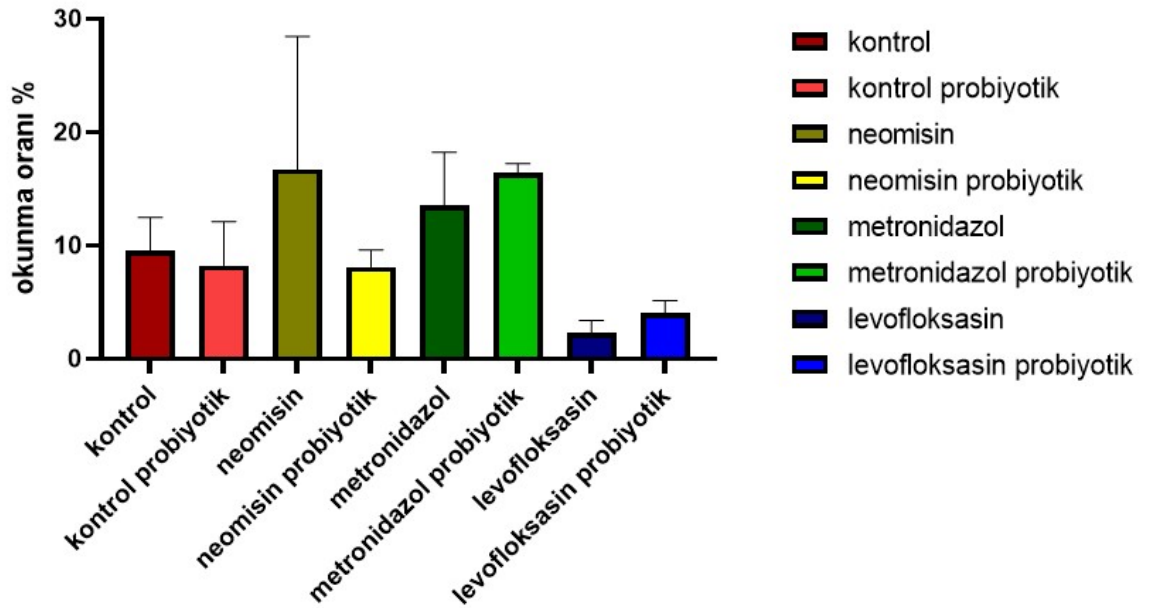


Şekil 4.6. Deneş gruplarının mikrobiyota kompozisyonları (Aileye göre)

Her bir aile için toplam okunma sayısı log10 olarak verilmiştir.

Deney gruplarının aile seviyesindeki mikrobiyota kompozisyonları şekil 4.6.'da verilmiştir. Neomisin ve neomisin probiyotik gruplarında Lactobacillaceae ailesine ait bakteriler tamamen yok olmuştur. Ayrıca kontrol ve kontrol probiyotik gruplarında çokça görülen Helicobacteraceae ve Desulfovibrionaceae ailelerine ait bakteriler de neomisin verilen bütün gruplarda büyük ölçüde yok olmuştur. Levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında ise Bacteroidota şubesinden Rikenellaceae ailesine ait bakteriler, Proteobacteria şubesinden Succinivibrionaceae, Sutterellaceae ve Enterobacteriaceae ailelerine ait bakteriler, Verrucomicrobiota şubesinden Puniceicoccaceae ailesine ait bakteriler ve Cyanobacteria şubesindeki bütün aileler büyük ölçüde yok olmuştur.

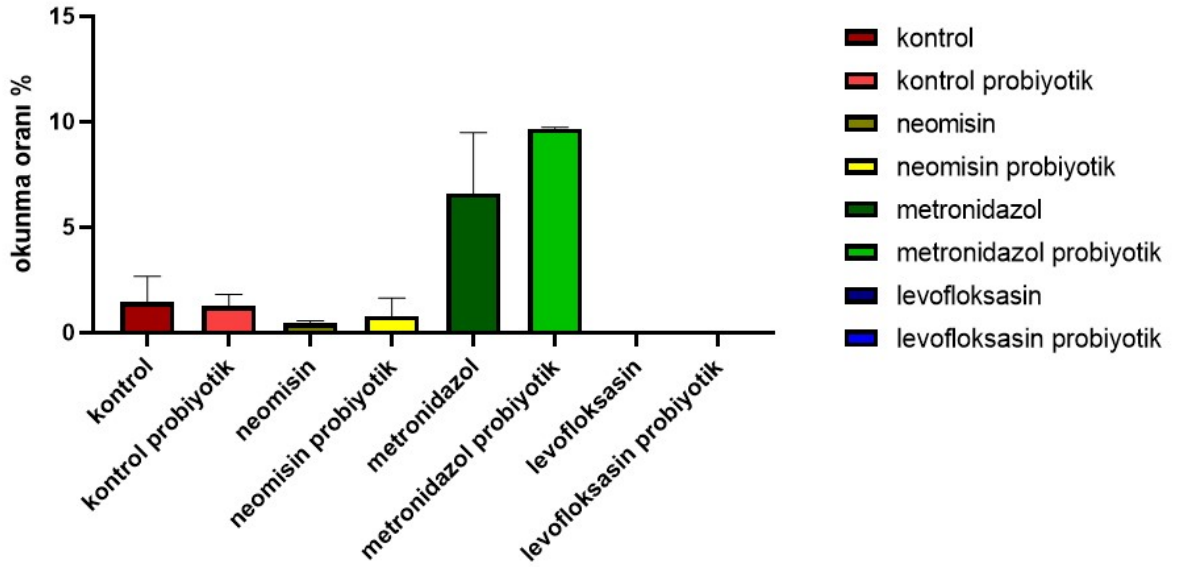
Bir diğer önemli veri olarak Firmicutes ve Bacteroidota harici bakterilerin gruplara göre oranı şekil 4.7.'de verilmiştir. Levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında kontrol grubuna göre Firmicutes ve Bacteroidota harici bakterilerin oranının azaldığı görülmüştür. Levofloksasin verilen bütün gruplarda Cyanobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobiota ve Patescibacteria türü bakterilerin oranı sıfıra düşmüştür.



Şekil 4.7. Firmicutes ve Bacteroidota harici türlerin toplam mikrobiyotaya oranı

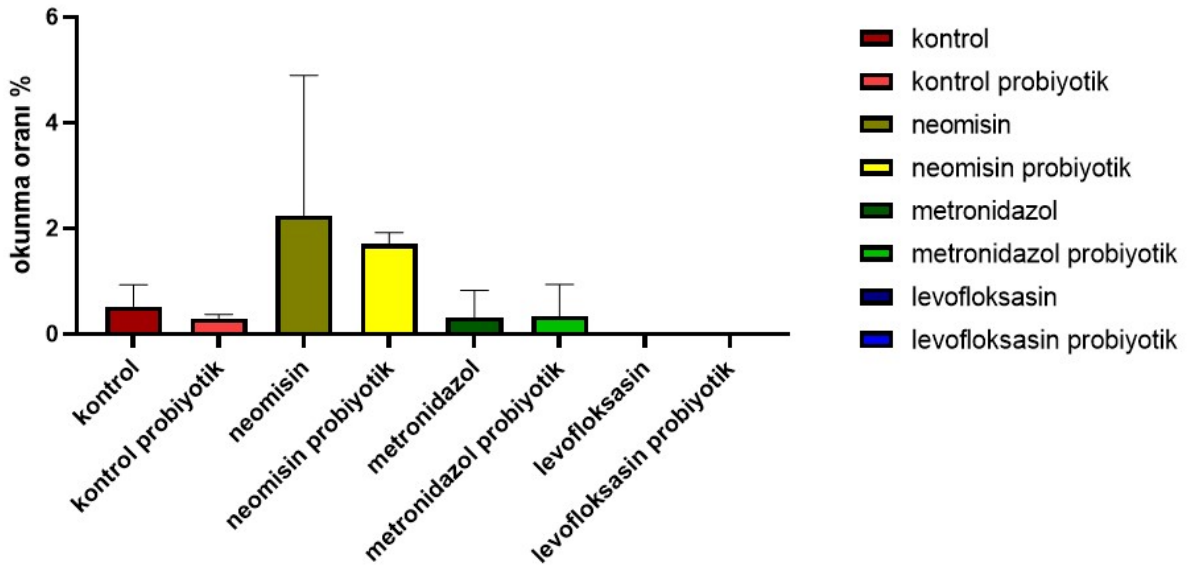
Bir diğer dikkat çeken bulgu da, metronidazol ve metronidazol probiyotik gruplarında Proteobacteria şubesine ait bakterilerin oranının önemli ölçüde artmış olmasıdır.

Proteobacteria türü bakterilerin oranındaki bu artış metronidazol probiyotik grubunda daha belirgin olarak görülmüştür. (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Proteobacteria şubesine ait türlerin toplam mikrobiyotaya oranı

Cyanobacteria şubesine ait bakterilerin toplam mikrobiyotaya oranına baktığımız zaman neomisin ve neomisin probiyotik gruplarında kontrol grubuna göre artış görülmüştür (Şekil 4.9.).

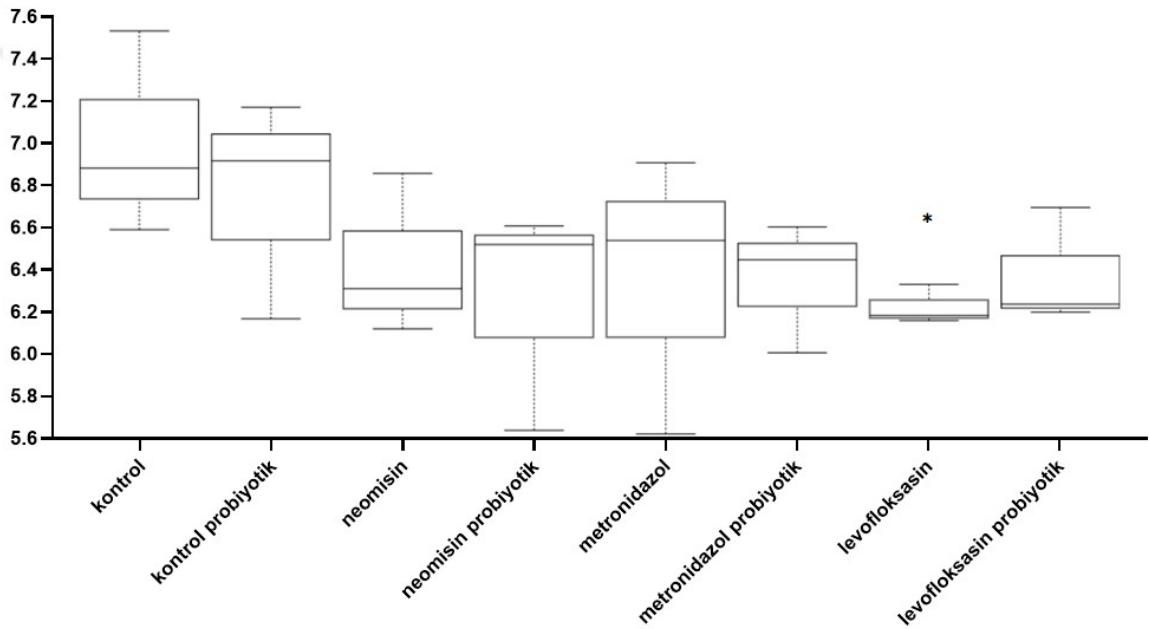


Şekil 4.9. Cyanobacteria şubesine ait türlerin toplam mikrobiyotaya oranı

4.3.1. Alfa çeşitlilik analizleri

Alfa çeşitliliği, tür zenginliğini, yani örnekler içindeki çeşitliliği değerlendirmek için kullanılan bir ölçüdür. Grupların alfa çeşitlilik analizleri için Shannon Entropi, Faith's phylogenetic diversity (Faith's PD) (Filogenetik Çeşitlilik) ve Pielou düzgünlüğü indeksleri kullanılmıştır.

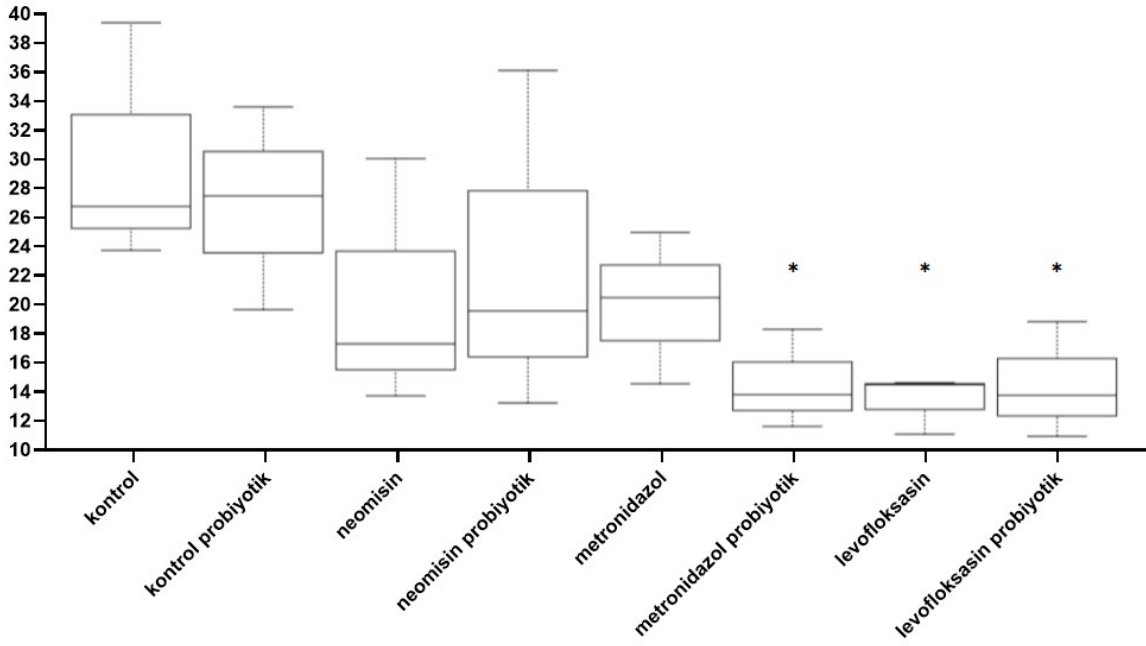
Shannon indeksinin değeri ne kadar yüksekse mikrobiyota grubunun tür zenginliği o kadar yüksektir. Buna göre antibiyotik verilen bütün gruplarda tür çeşitliliğinin azaldığı görülmüştür. Bu azalış sadece levofloksasin grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Shannon Entropi indeksine göre tür çeşitlilikleri

ns: not significant (anlamlı değil); *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

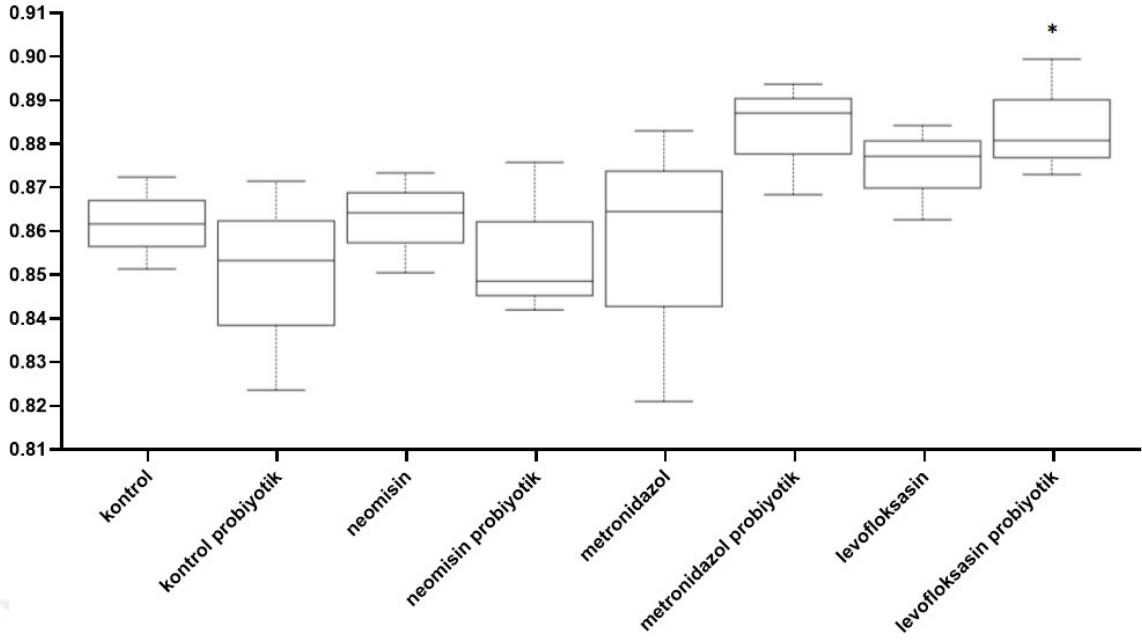
Gruplar arasındaki tür zenginliğini belirlemek amacıyla Faith's PD her bir grupta isimlendirilen diziler arasındaki filogenetik ilişkileri içeren topluluk zenginliğinin nitel bir ölçüsü olarak değerlendirir. Faith's PD indeksi Shannon indeksi ile benzer sonuçlar göstermektedir. Antibiyotik verilen bütün gruplarda tür çeşitliliği azalmıştır. Bu azalış metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Faith's PD indeksine göre tür çeşitlilikleri

ns: not significant (anlamli değil); *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Pielou düzgünlüğü indeksi topluluktaki türlerin hem zenginliğini hem de birey sayılarıyla birlikte düzgünlüğünü değerlendirmektedir. Bu indekse göre 1'e yaklaşan değerler düzgünlüğün arttığını, 0'a yaklaşan değerler ise düzgünlüğün azaldığını göstermektedir. Buna göre de levofloksasin probiyotik grubunda daha az sayıda tür ancak bu türlere ait daha eşit sayıda birey bulunmaktadır (Şekil 4.12.).



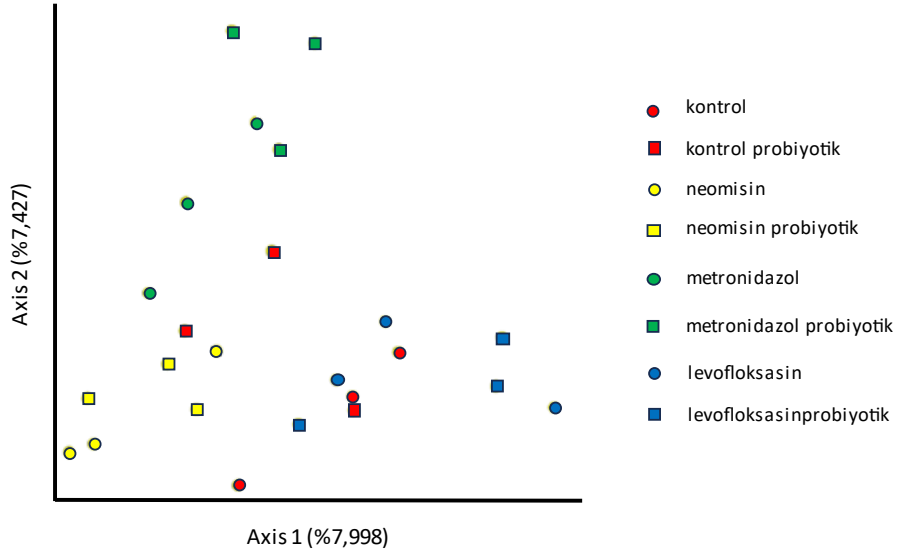
Şekil 4.12. Pielou düzgünlüğü indeksine göre tür çeşitlilikleri

ns: not significant (anlamli değil); *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

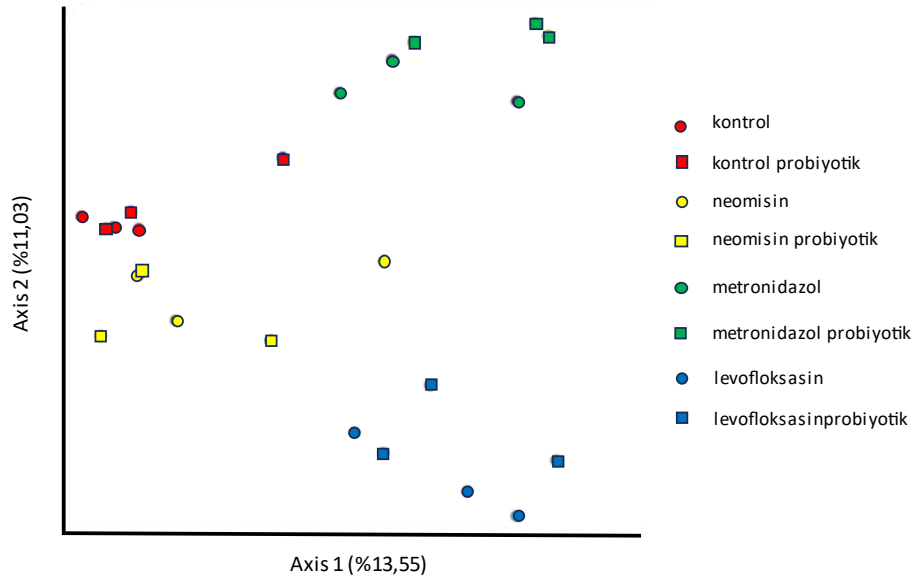
4.3.2. Beta çeşitlilik analizleri

Beta çeşitlilik grupların birbirlerine göre tür benzerliklerini ve farklılıklarını göstermektedir. Bununla ilgili Bray Curtis PCoA (Principal Coordinate Analysis) ve unifrac distance analizleri şekil 4.13. ve şekil 4.14.'te verilmiştir. Bu analizlerden unifrac distance sadece hangi çeşit türler olduğuna odaklanırken, Bray Curtis bu türlerdeki birey sayılarını da değerlendirerek göstermektedir. Bu sonuçlar verilen üç ayrı antibiyotik de mikrobiyotada kendilerine özgü değişiklikler yaptığını göstermektedir. Antibiyotik verilen her grup tür çeşitliliği bakımından farklı yönler doğru değişim göstermiştir. Ayrıca *Lactobacillus plantarum* türü probiyotik verilen gruplarda da sadece antibiyotik verilenlere göre hafif değişimler görülmüştür.

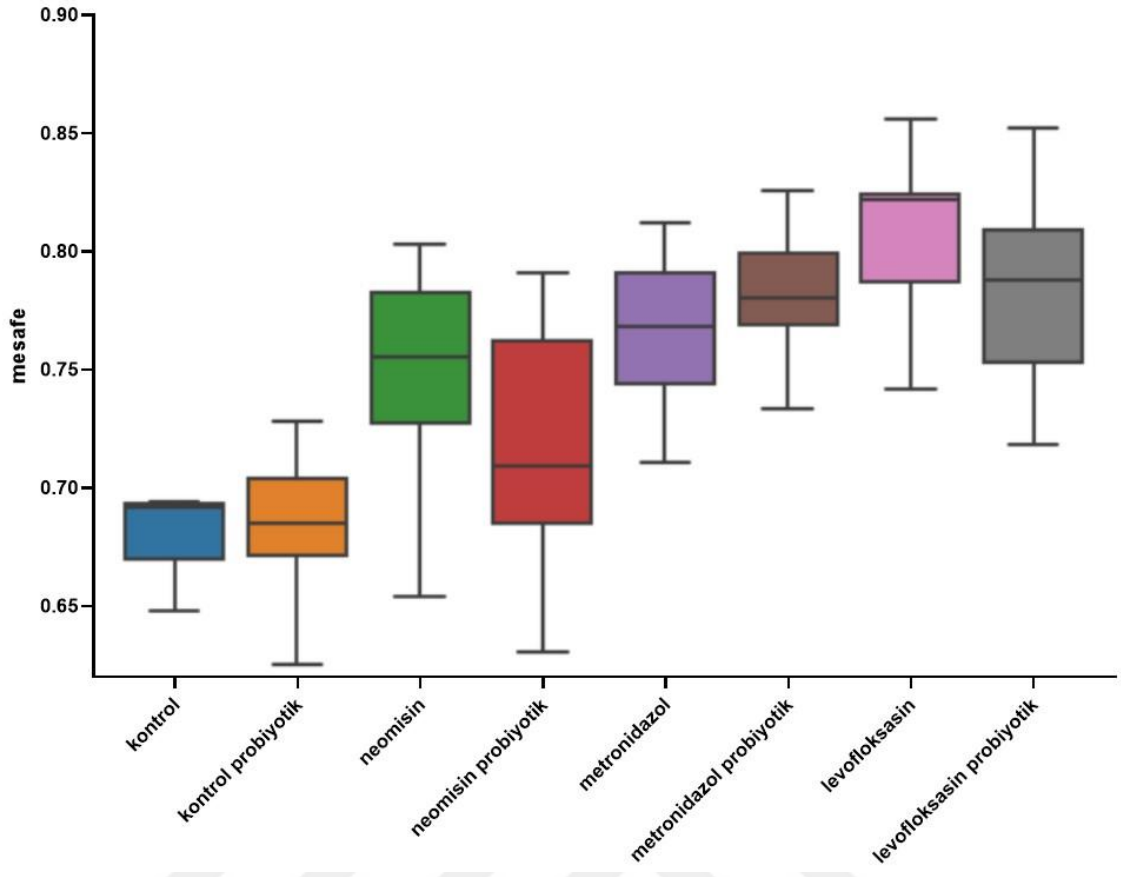
Şekil 4.15.'te ise grupların birbirlerine olan uzaklıkları sayısal olarak gösterilmiştir. Buna göre kontrol probiyotik grubu kontrol grubuna göre farklılık göstermemektedir. Antibiyotik verilen bütün gruplarda ise kontrol grubundan uzaklaşma görülmektedir. Bu uzaklaşma en fazla levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarındadır.



Şekil 4.13. Bray Curtis PCoA gösterimi



Şekil 4.14. Unifrac distance PCoA gösterimi



Şekil 4.15. Unifrac distance box plot gösterimi

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan üç antibiyotiğin ve *Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin sonuçları alt başlıklar halinde değerlendirilmiştir.

5.1. Neomisin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Neomisin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkisiyle ilgili daha önceden yapılan çalışmaların hepsinde kombine antibiyotik tedavileri uygulanmıştır. Neomisin tek başına kullanımda kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Neomisin kombine olarak kullanıldığı çalışmalarda (genellikle 4-5 antibiyotik kombine olarak) kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür (Mathur ve ark., 2016; Zarrinpar ve ark., 2018). Bizim çalışmamızdaki 10 günlük içme suyu aracılığı ile maruziyet sonucunda ise kan glukoz seviyelerinde bir değişim görülmemiştir. Bunun sebebi diğer çalışmalarda kombine olarak kullanılan diğer antibiyotiklerin etkisi olabilir. Benzer şekilde neomisin ve probiyotiğin birlikte verildiği grupta da kan glukoz seviyesinde bir değişiklik görülmemiştir.

Neomisin verilen gruplardaki hayvanların vücut ağırlıklarına baktığımız zaman ise sadece neomisin verilen grupta vücut ağırlığında ortalama %4'lük istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür. Neomisin ve probiyotik birlikte verilen grupta ise ortalama %3'lük bir düşüş gözlenirken bu düşüş anlamlı çıkmamıştır.

Neomisin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri de daha önceki çalışmalarda kombine antibiyotikler ile incelenmiştir. Neomisin, vankomisin ve ampisilinin birlikte verildiği bir çalışmada şube düzeyinde Actinobacteria ve Bacteroidota türü bakterilerde azalma; Firmicutes, Proteobacteria ve Tenericutes türü bakterilerde ise artış görülmüştür (Keogh ve ark., 2021). Sadece neomisin ve ampisilinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise bu sonuçların aksine Firmicutes ve Actinobacteria türü bakterilerde azalma, Bacteroidota ve Proteobacteria türü bakterilerde ise artış görülmüştür (Castaneda ve ark., 2021).

Bizim çalışmamızda ise Bacteroidota türü bakterilerde artış, Firmicutes türlerinde ise azalış görülmüştür. Bununla birlikte Proteobacteria türlerinde bir azalış, Cyanobacteria türlerinde ise önemli bir artış görülmüştür. Dikkat çekici bir sonuç da neomisin verilen bütün gruplarda bağırsak sağlığı için önemli olduğu bilinen Lactobacillaceae ailesindeki bakterilerin tamamı yok olmuştur. Bu durum neomisin ile birlikte *Lactobacillus plantarum* türü probiyotik verilen grupta da değişmemiştir. Bu sonuç neomisinin bu aile üzerinde öldürücü etkisi

olduğunu göstermektedir. Ayrıca kontrol ve kontrol probiyotik gruplarında çokça görülen Helicobacteraceae ve Desulfovibrionaceae ailelerine ait bakteriler de neomisin verilen bütün gruplarda büyük ölçüde yok olmuştur.

5.2. Metronidazolün Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Metronidazolün kan glukoz seviyesi üzerindeki etkileri hem tek başına hem de kombine kullanımda daha önceki çalışmalarda araştırılmıştır. Çalışmaların çoğunda metronidazolün kan glukoz seviyesini düşürdüğü görülmüştür (Girdhar ve ark., 2022; Meier ve ark., 2021; Zarrinpar ve ark., 2018). Literatür ile benzer şekilde, çalışmamızda da metronidazol verilen bütün gruplarda kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür. Hatta bu düşüş bazı hayvanlarda ciddi boyutlara ulaşmıştır (30 mg/dL).

2022 yılında Girdhar ve arkadaşlarının yayınladığı çalışmada fareler normal beslenme, yüksek yağlı beslenme ve yüksek yağlı beslenme artı metronidazol (içme suyuna 1g/L oranda karıştırılarak) olarak gruplara ayrılmıştır. Bu çalışmada hayvanların vücut ağırlıklarında metronidazole bağlı bir değişim görülmemiştir. Ancak deney dizaynı olarak metronidazol normal beslenen farelere değil, sadece yüksek yağlı beslenen farelere verilmiştir. Bizim çalışmamızda ise metronidazol verilen bütün gruplarda hayvanların vücut ağırlıklarında önemli düşüş görülmüştür. Hem metronidazol hem de metronidazol probiyotik grubunda deney sonunda hayvanların vücut ağırlıklarında ortalama %10'luk bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüşün kan glukoz seviyesi ve mikrobiyota ile ilişkili olabileceği düşünülmekle birlikte bunun netleştirilebilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yine aynı çalışmada metronidazolün kan glukoz seviyesi ve glukoz metabolizması üzerindeki etkileri de araştırılmıştır (Girdhar ve ark., 2022). Çalışmada farklı sürelerde içme suyu aracılığı ile verilen metronidazolün plazma insülin seviyeleri, glukoz tolerans testi, insülin tolerans testi, pankreas enzimleri gibi birçok parametre üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deney sonunda metronidazol verilen hayvanlarda plazma insülin seviyelerinde azalma, açlık kan glukoz seviyesi, glukoz tolerans testi ve insülin tolerans testi sonuçlarındaki verilerin hepsinde kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür. Ayrıca pankreas ağırlıkları yüksek yağlı beslenen hayvanlarda artarken, yüksek yağlı besinle birlikte metronidazol verilen hayvanlarda pankreas ağırlıkları normal beslenen hayvanlarla aynı seviyede bulunmuştur. Ayrıca deney sonunda bu hayvanların mikrobiyotaları bakterisiz farelere ekilmiş ve benzer sonuçlar donör farelerde de görülmüştür.

Metronidazolün tek başına kullanımında bağırsak mikrobiyotasındaki türler üzerindeki etkileri daha önceki çalışmalarda araştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda metronidazol verilen gruplarda bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliği genel olarak azalmıştır. Firmicutes türü bakterilerin oranında azalış, Bacteroidota türü bakterilerde ise artış görülmüştür. Bununla birlikte Proteobacteria türü bakterilerin oranlarında ise önemli bir artış görülmüştür. Proteobacteria türü bakterilerdeki bu artış metronidazol probiyotik grubunda daha da belirgin şekilde görülmüştür. Ayrıca alfa çeşitlilik analizlerinde Faith's PD indeksine göre tür çeşitliliği hem metronidazol hem metronidazol probiyotik gruplarında azalmakla birlikte metronidazol probiyotik grubunda bu azalış daha şiddetli görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bu sonuçlar metronidazolün glukoz metabolizması ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin birbiriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Ancak bu ilişkinin mikrobiyotadaki hangi tür bakteriler aracılığı ile olduğu henüz net değildir. Bizim çalışmamız bu etkinin Firmicutes türlerindeki azalış ve Bacteroidota türlerindeki artış ile ilişkili olabileceğini düşündürmekle birlikte bu hipotezin desteklenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.3. Levofloksasinin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Levofloksasinin vücut ağırlıkları üzerindeki etkisi ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamızda levofloksasin grubundaki hayvanlarda deney sonunda deney başlangıcına göre vücut ağırlıklarında ortalama %3'lük bir düşüş görülürken bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Levofloksasin probiyotik grubunda ise vücut ağırlıklarında ortalama %12'lik istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür.

Birçok çalışmada levofloksasinin kan glukoz seviyesini düşürücü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Althaqafi ve ark., 2021; Hori ve ark., 2006). Hatta levofloksasine bağlı hipoglisemi bazı durumlarda hayati tehlike oluşturacak boyutlara ulaşabilmektedir (Friedrich & Dougherty, 2004; Micheli ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda da levofloksasin verilen bütün gruplarda kan glukoz seviyelerinde düşüş görülmüştür. Hatta literatür ile benzer şekilde, bazı hayvanlarda kan glukoz seviyeleri ciddi seviyelere kadar düşmüştür. (22mg/dL).

Birçok vaka raporu ile benzer şekilde (Garber ve ark., 2009; Micheli ve ark., 2012) levofloksasin verilen gruplarda hipogliseminin şiddeti ilk günlerde daha azken maruziyet

süresi uzadıkça artmaktadır. 4. ve 7. gün yapılan ölçümlerde kan glukoz seviyelerinde ortalama %5-20 seviyesinde bir düşüş görülürken, bu oran 11. gün yapılan ölçümlerde %30-70 seviyelerine varmaktadır. Levofloksasinin ortalama yarılanma ömrü insanlarda 6-8 saat (Fish & Chow, 1997), ratlarda ise 5 saat olarak ölçülmüştür (Hurtado ve ark., 2014). Bu nedenle maruziyet süresinin artması ile kan glukoz seviyeleri arasındaki ilişkinin ilacın plazma konsantrasyonundaki bir artışla ilişkili olması mümkün değildir. Florokinolon grubu antibiyotiklerin hipoglisemi etkisinde tahmini bir mekanizma olduğu düşünülen pankreatik β -hücrelerindeki K_{ATP} kanallarına karşı levofloksasinin afinitesinin düşük olduğu da bilinmektedir. 2009 yılında yapılan bir çalışmada normal plazma konsantrasyonlarında levofloksasinin pankreastan insülin salınımını tetikleyemeyeceği gösterilmiştir (Hany Ghaly, 2009).

Levofloksasinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileriyle ilgili çalışmalarda genellikle çelişkili sonuçlar bulunmuştur. 2012 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 10 gün boyunca 65mg/kg dozda verilen levofloksasinin deney sonunda bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliğini artırdığı bulunmuştur. 2020 yılında ratlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise 3 gün boyunca 100mg/kg verilen levofloksasinin toplam tür çeşitliliğini azaltmasının yanında Bacteroidota türlerini neredeyse tamamen yok ettiği, Firmicutes türlerini ise %98 oranda baskın hale getirdiği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliği levofloksasin verilen gruplarda önemli ölçüde azalmıştır. Mikrobiyotada bulunan toplam tür sayısı yarı yarıya azalırken, Shannon entropi ve Faiths's PD indekslerine göre de tür çeşitliliği istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır. Firmicutes türlerinin toplam mikrobiyotaya oranında hafif bir azalma görülürken Bacteroidota türleri ise artış göstermiştir. Bunun yanında asıl büyük değişimler diğer bakteri şubelerinde görülmüştür. Proteobacteria, Verrucomicrobiota ve Cyanobacteria türleri levofloksasin verilen bütün gruplarda tamamen yok olmuştur. Levofloksasin ile birlikte probiyotik verilen grupta da bu durum değişmemiştir.

Bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması arasındaki kuvvetli ilişki günümüzde birçok çalışmada gösterilmiş olsa da buna sebep olan bakteri türleri ile ilgili çalışmalar henüz çelişkili sonuçlar vermektedir (Girdhar ve ark., 2022; Gurung ve ark., 2020; Rodrigues ve ark., 2017; Sharma & Tripathi, 2019; Zarrinpar ve ark., 2018). 2018 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmada kombine antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması üzerindeki etkisi incelenmiştir (Zarrinpar ve ark., 2018). Çalışmada ampisilin

(100 mg/kg), vankomisin (50 mg/kg), metronidazol (100 mg/kg), neomisin (100 mg/ kg) ve amfoterisin B (1 mg/kg) dozda günde 2 kere oral gavaj ile 13 gün süreyle verilmiştir. Çalışmada deney sonundaki açlık kan glukoz seviyelerinde antibiyotik verilen grupta ortalama %30 seviyesinde bir düşüş görülmüştür. Bu sonuç, çalışmamızdaki levofloksasin (%31), levofloksasin probiyotik (%33), metronidazol (%21) ve metronidazol probiyotik (%30) verilen gruplardaki glukoz seviyelerindeki düşüşle benzetilmektedir. Ancak bu çalışmada bizim çalışmamızın aksine Bacteroidota ve Firmicutes türlerinin toplam mikrobiyotaya oranı ortalama %10 seviyesine kadar düşmüştür. Ayrıca bu çalışmada glukoz tolerans testi, insülin seviyeleri, SCFA seviyeleri, GLP-1 seviyeleri, çekal gen ekspresyonu gibi parametreler de ölçülmüş ve bağırsak bakterilerinin konağın glukoz metabolizması ile ilişkisinin temelini kolonosit metabolizmasındaki değişimler olduğu gösterilmiştir.

Kan glukoz seviyelerindeki en belirgin düşüşlerin görüldüğü metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarında Faith's PD indeksine göre de tür çeşitliliklerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgular, levofloksasin ve metronidazol antibiyotiklerinin kan glukoz seviyeleri üzerinde neden olduğu değişimlerle ilgili mikrobiyotanın rolünün olduğunu düşündürmekle birlikte bunun kanıtlanabilmesi için plazma ve intestinal SCFA seviyeleri, GLP-1 seviyeleri ve insülin seviyelerinin ölçüleceği ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.4. *Lactobacillus plantarum* Türü Probiyotiğin Vücut Ağırlığı, Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Vücut ağırlıklarındaki değişimler incelendiği zaman sadece probiyotik verilen grupta deney sonunda deney başlangıcına göre hayvanların vücut ağırlıklarında yaklaşık %5 oranında istatistiksel olarak anlamlı düşüş görülmüştür. Ayrıca levofloksasin grubundaki hayvanlarda vücut ağırlıklarında ortalama %3'lük bir düşüş görülürken, levofloksasin probiyotik grubunda vücut ağırlıklarında ortalama %12'lik istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür. Metronidazol probiyotik grubunda da metronidazol grubunda olduğu gibi vücut ağırlıklarında ortalama %8'lik istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

Lactobacillus plantarum türü probiyotiklerin T2D modellerinde kan glukoz seviyelerini düşürücü etkisi daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Balakumar ve ark., 2018; Lee ve ark., 2018). Ancak sağlıklı hayvan modellerinde yapılan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda sadece probiyotik verilen grupta kan glukoz seviyelerinde kontrol grubuna göre hafif bir azalma görülmekle birlikte (ortalama %10) bu

sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Metronidazol probiyotik ve Levofloksasin probiyotik gruplarında da metronidazol ve levofloksasin gruplarına benzer şekilde kan glukoz seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir düşüş gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışma antibiyotiğe bağlı mikrobiyota hasarı sonucundaki kan glukoz seviyelerindeki düşüşün antibiyotik maruziyeti sonlandıktan sonra bağırsak bakterilerinin rekolonizasyonu ile geri döndürülebildiğini göstermektedir (LaGamma ve ark., 2021). Bundan yola çıkarak kurduğumuz hipotezlerden biri antibiyotik ile birlikte probiyotik verilmesinin kan glukoz seviyelerindeki düşüşü önleyebileceğiydi. Ancak çalışmamızın sonunda antibiyotikle birlikte probiyotik verilen grupların hepsinde kan glukoz seviyelerinde azalma görülmüştür. Hatta bu azalma probiyotik verilen gruplarda daha şiddetli görülmüştür. Bu sonuç *Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin antibiyotiklere bağlı kan glukoz seviyesi düşüşünü önleyemediğini göstermektedir. Bu durumun nedeni tek türde bakteri içeren bir probiyotik seçmemiz olabilir. Daha sonraki çalışmalarda birden fazla tür probiyotiğin kombine olarak kullanılması sonuçları etkileyebilir.

Mikrobiyota verilerine baktığımız zaman kontrol grubunda Bacteroidota türü bakterilerin oranı % 41-44 aralığında görülürken kontrol probiyotik grubunda hafif bir artış ile % 40-57 arası çıkmış yani aralık genişlemiştir. Firmicutes türü bakterilerin oranı ise kontrol grubunda % 46-48 aralığındayken kontrol probiyotik grubunda hafif bir azalışla birlikte aralık genişlemiş ve oran % 37-46 arasında görülmüştür. Kontrol grubunun aksine antibiyotik verilen gruplarda ise probiyotik ilave edildiği zaman oran aralıklarının azaldığı görülmüştür. Örneğin levofloksasin grubu üyelerinde Bacteroidota türü bakterilerin oranı % 38-70, Firmicutes türü bakterilerin oranı % 27-57 aralığındayken, levofloksasin probiyotik grubunda Bacteroidota türü bakterilerin oranı % 48-61, Firmicutes türü bakterilerin oranı % 35-46 aralığında görülmüştür. Ayrıca metronidazol grubunda Proteobacteria türü bakterilerin oranı artarken metronidazol probiyotik grubunda bu artış daha belirgin görülmüştür.

Alfa çeşitlilik analizlerine baktığımız zaman Faith's PD indeksine göre metronidazol grubunda tür çeşitliliğinde bir düşüş görülürken, metronidazol probiyotik grubunda bu düşüş daha belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür. Shannon indeksine göre ise tür çeşitliliği levofloksasin grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken, levofloksasin probiyotik grubunda bu azalış istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir. Pielou düzgünlüğü indeksine göre ise sadece levofloksasin probiyotik grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzgünlük artışı görülmüştür.

Beta eşitlilik analizlerine bakıldığı zaman antibiyotikler tür eşitliliklerinde önemli değişikliklere neden olurken antibiyotiklerle birlikte verilen probiyotik çok belirgin farklılıklara neden olmamıştır. Ancak yine de probiyotiğe bağlı hafif değişiklikler PCoA incelemelerinde görülmektedir.





6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız neomisin, metronidazol ve levofloksasin antibiyotikleri için tekli kullanımda kan glukoz seviyeleri ve mikrobiyota üzerindeki etkilerinin birlikte incelendiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonucunda neomisinin 10 günlük süreyle içme suyu aracılığı ile verilmesinin ratlarda kan glukoz seviyelerinde bir düşüğe neden olmadığı bulunmuştur. Ancak neomisin verilen grupta hayvanların vücut ağırlıklarında ortalama % 4'lük bir düşüş görülmüştür. Bununla birlikte neomisin bağırsak mikrobiyotasında önemli değişikliklere neden olmakta ve mikrobiyotadaki toplam tür çeşitliliğini azaltmaktadır. Neomisin bağırsak mikrobiyotasındaki Bacteroidota ve Cyanobacteria türlerinin oranını artırırken, Firmicutes ve Proteobacteria türlerini azaltmaktadır. Aynı zamanda Firmicutes şubesinde bulunan bir aile olan Lactobacillaceae üzerinde öldürücü etkiye sahiptir.

Araştırma sonuçlarımız metronidazolün 10 günlük süreyle içme suyu aracılığı ile verilmesinin ratlarda kan glukoz seviyelerini anlamlı ölçüde düşürdüğünü göstermektedir. Bunun yanında diğer bazı çalışmalardan farklı olarak vücut ağırlıklarında ortalama %10 seviyesinde azalma görülmüştür. Metronidazole bağlı bağırsak mikrobiyotasında tür çeşitliliği önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte Firmicutes türü bakterilerin mikrobiyotadaki oranı azalırken Bacteroidota ve Proteobacteria türü bakterilerde artış görülmüştür.

Çalışmamızda levofloksasinin 10 günlük süreyle içme suyu aracılığı ile verilmesinin ratlarda kan glukoz seviyelerini ciddi ölçüde düşürdüğü bulunmuştur. Bu düşüş ilk günlerde daha azken maruziyet süresinin uzamasıyla birlikte artmıştır. Mikrobiyota verilerine baktığımız zaman levofloksasin geniş spektrumlu bir antibiyotik olarak tek başına kullanımda bile bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliğini önemli derecede azaltmaktadır. Levofloksasinin Proteobacteria, Verrucomicrobiota ve Cyanobacteria türü bakterileri tamamen öldürdüğü görülmüştür. Bununla birlikte Firmicutes türü bakterilerin oranını azaltırken, Bacteroidota türü bakterilerin oranını artırmıştır.

Alfa çeşitlilik analizlerinden Faith's PD indeksine göre tür çeşitliliğinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı gruplar metronidazol probiyotik, levofloksasin ve levofloksasin probiyotik gruplarıdır. Bununla uyumlu şekilde kan glukoz seviyelerinin bu gruplarda en anlamlı düşüşleri göstermesi dikkat çekmektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular daha önceki literatür bilgisi ışığında değerlendirildiğinde, metronidazol ve

levofloksasin antibiyotiklerine bağlı görölen kan glukoz seviyesindeki düşüşlere, bu antibiyotiklerin mikrobiyota üzerindeki etkilerinin de katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu mekanizmaların aydınlatılabilmesi için plazma ve intestinal SCFA seviyeleri, GLP-1 seviyeleri ve insülin seviyelerinin ölçüleceği ileri çalışmalar literatüre katkı sağlayacaktır.

Antibiyotiklerin etkilerinin yanısıra, antibiyotiklerle birlikte verilen *Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin antibiyotiklere bağlı mikrobiyota değişimlerine etki etmesine rağmen, kan glukoz seviyelerindeki düşüşü yeterince önleyemediği gösterilmiştir. Hatta probiyotik verilen bazı gruplarda kan glukoz seviyelerinde daha şiddetli düşüşler görölmüştür. Ayrıca *Lactobacillus plantarum* türü probiyotiğin vücut ağırlıklarını azaltıcı etkisi olduğu; bu etkinin kontrol grubuna göre sadece probiyotik verilen kontrol probiyotik grubunda ve metronidazol probiyotik ile levofloksasin probiyotik gruplarında öne çıktığı gösterilmiştir.

Bağımsız değişken sayısının daha az olması için çalışmamızda tek tür probiyotik tercih edilmiştir. Ancak daha fazla sayıda probiyotiğin kombine olarak kullanılması, ayrıca antibiyotik tedavisinden sonra belirli bir süre daha probiyotik takviyesinin sürdürölmesi sonuçları değiştirebilecektir. Daha ileri çalışmalarda antibiyotik verilmesi bittikten sonra birkaç haftalık iyileşme sürecinin ardından da daha ayrıntılı parametrelerle birlikte hayvanların kan glukoz seviyelerinin ve mikrobiyota verilerinin incelenmesi mikrobiyota ile glukoz metabolizması arasındaki ilişkinin açıklanmasında fayda sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Althaqafi, A., Ali, M., Alzahrani, Y., Ming, L. C., & Hussain, Z. (2021). How safe are fluoroquinolones for diabetic patients? A systematic review of dysglycemic and neuropathic effects of fluoroquinolones. *Therapeutics and Clinical Risk Management* (C. 17, ss. 1083-1090). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S284171>
- Balakumar, M., Prabhu, D., Sathishkumar, C., Prabu, P., Rokana, N., Kumar, R., Raghavan, S., Soundarajan, A., Grover, S., Batish, V. K., Mohan, V., & Balasubramanyam, M. (2018). Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 279-295. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1317-7>
- Becattini, S., Taur, Y., & Pamer, E. G. (2016). Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. *Trends in Molecular Medicine* (C. 22, Sayı 6, ss. 458-478). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.04.003>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* (C. 37, Sayı 8, ss. 852-857). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Candela, M., Biagi, E., Soverini, M., Consolandi, C., Quercia, S., Severgnini, M., Peano, C., Turrone, S., Rampelli, S., Pozzilli, P., Pianesi, M., Fallucca, F., & Brigidi, P. (2016). Modulation of gut microbiota dysbioses in type 2 diabetic patients by macrobiotic Ma-Pi 2 diet. *British Journal of Nutrition*, 116(1), 80-93. <https://doi.org/10.1017/S0007114516001045>
- Castaneda, M., Smith, K. M., Nixon, J. C., Hernandez, C. J., & Rowan, S. (2021). Alterations to the gut microbiome impair bone tissue strength in aged mice. *Bone Reports*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2021.101065>
- Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa²³, G. J. (2001). Skin Micro⁻ora and Bacterial Infections of the Skin THE SKIN AND HOST DEFENSE MECHANISMS. *virulence factors. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (C. 6).
- Crommen, S., & Simon, M. C. (2018). Microbial regulation of glucose metabolism and insulin resistance. *Genes* (C. 9, Sayı 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes9010010>
- De La Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N. T., Corrales-Agudelo, V., Velásquez-Mejía, E. P., Carmona, J. A., Abad, J. M., & Escobar, J. S. (2017). Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*, 40(1), 54-62. <https://doi.org/10.2337/dc16-1324>
- De Vries, M. C. (2006). Analyzing Global Gene Expression of Lactobacillus plantarum in the Human Gastro-Intestinal Tract. Wageningen University and Research.
- Everard, A., & Cani, P. D. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology* (C. 27, Sayı 1, ss. 73-83). Bailliere Tindall Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.007>
- Fish, D. N., & Chow, A. T. (1997). The Clinical Pharmacokinetics of Levofloxacin. *PhOfmokinetic* (C. 32, Sayı 2).

- Francescone, R., Hou, V., & Grivennikov, S. I. (2014). Microbiome, inflammation and cancer. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*, 20(3), 181.
- Friedrich, L. V., & Dougherty, R. (2004). Fatal hypoglycemia associated with levofloxacin. *Pharmacotherapy*, 24(12 I), 1807-1812. <https://doi.org/10.1592/PHCO.24.17.1807.52348>
- Garber, S. M., Pound, M. W., & Miller, S. M. (2009). Hypoglycemia associated with the use of levofloxacin. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 66(11), 1014-1019. <https://doi.org/10.2146/ajhp080105>
- Gauffin Cano, P., Santacruz, A., Moya, Á., & Sanz, Y. (2012). Bacteroides uniformis CECT 7771 ameliorates metabolic and immunological dysfunction in mice with high-fat-diet induced obesity. *PLoS ONE*, 7(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041079>
- Girdhar, K., Soto, M., Huang, Q., Orliaguet, L., Cederquist, C., Sundaresh, B., Hu, J., Figura, M., Raisingani, A., Canfora, E. E., Dirice, E., Fujisaka, S., Goossens, G. H., Blaak, E. E., Kulkarni, R. N., Kahn, C. R., & Altindis, E. (2022). Gut Microbiota Regulate Pancreatic Growth, Exocrine Function, and Gut Hormones. *Diabetes*, 71(5), 945-960. <https://doi.org/10.2337/db21-0382>
- Giri, P., Hu, F., La Gamma, E. F., & Nankova, B. B. (2019). Absence of gut microbial colonization attenuates the sympathoadrenal response to hypoglycemic stress in mice: implications for human neonates. *Pediatric Research*, 85(4), 574-581. <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0270-y>
- Gupta, T., Mulkalwar, S., Kulkarni, V., Jadhav, S., Tilak, A., & Rane, B. (2020). A comparative study of effect of fluoroquinolones on blood glucose levels in rats. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 9(8), 1217. <https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20203137>
- Gurung, M., Li, Z., You, H., Rodrigues, R., Jump, D. B., Morgun, A., & Shulzhenko, N. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine* (C. 51). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>
- Hany Ghaly, C. K. S. S. A. P. U. H. B. J. Z. I. R. (2009). The insulinotropic effect of fluoroquinolones. *Biochemical Pharmacology*, 77(6), 1040-1052.
- He, J., Zhang, P., Shen, L., Niu, L., Tan, Y., Chen, L., Zhao, Y., Bai, L., Hao, X., Li, X., Zhang, S., & Zhu, L. (2020). Short-chain fatty acids and their association with signalling pathways in inflammation, glucose and lipid metabolism. *International Journal of Molecular Sciences* (C. 21, Sayı 17, ss. 1-16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21176356>
- Hori, S., Kizu, J., & Kawamura, M. (2006). Effect of fluoroquinolones on plasma glucose levels in fasted and glucose-loaded mice. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 12(2), 109-111. <https://doi.org/10.1007/s10156-006-0429-z>
- National Library of Medicine, Pubmed (2023, Ekim 29). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced/>
- Hurtado, F. K., Weber, B., Derendorf, H., Hochhaus, G., & Costa, T. D. (2014). Population pharmacokinetic modeling of the unbound levofloxacin concentrations in rat plasma and prostate tissue measured by microdialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(2), 678-686. <https://doi.org/10.1128/AAC.01884-13>
- Keogh, C. E., Kim, D. H. J., Pusceddu, M. M., Knotts, T. A., Rabasa, G., Sladek, J. A., Hsieh, M. T., Honeycutt, M., Brust-Mascher, I., Barboza, M., & Gareau, M. G. (2021). Myelin as a regulator of development of the microbiota-gut-brain axis. *Brain, Behavior, and Immunity*, 91, 437-450. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.11.001>
- Khosravi, A., & Mazmanian, S. K. (2013). Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Current Opinion in Microbiology* (C. 16, Sayı 2, ss. 221-227). <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.03.009>

- Konstantinidis, T., Tsigalou, C., Karvelas, A., Stavropoulou, E., Voidarou, C., & Bezirtzoglou, E. (2020). Effects of antibiotics upon the gut microbiome: A review of the literature. *Biomedicines* (C, 8, Sayı 11, ss. 1-15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8110502>
- Koster, J. C., Permutt, M. A., & Nichols, C. G. (2005). Diabetes and insulin secretion: the ATP-sensitive K⁺ channel (KATP) connection. *Diabetes*, 54(11), 3065-3072.
- LaGamma, E. F., Hu, F., Pena Cruz, F., Bouchev, P., & Nankova, B. B. (2021). Bacteria - derived short chain fatty acids restore sympathoadrenal responsiveness to hypoglycemia after antibiotic-induced gut microbiota depletion. *Neurobiology of Stress*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100376>
- Lan, H., Gui, Z., Zeng, Z., Li, D., Qian, B., Qin, L. yuan, Dai, L., & Song, J. Le. (2022). Oral administration of *Lactobacillus plantarum* CQPC11 attenuated the airway inflammation in an ovalbumin (OVA)-induced Balb/c mouse model of asthma. *Journal of Food Biochemistry*, 46(2). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14036>
- Lee, E., Jung, S. R., Lee, S. Y., Lee, N. K., Paik, H. D., & Lim, S. Il. (2018). *Lactobacillus plantarum* strain In4 attenuates diet-induced obesity, insulin resistance, and changes in hepatic mRNA levels associated with glucose and lipid metabolism. *Nutrients*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/nu10050643>
- Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* (C, 124, Sayı 4, ss. 837-848). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.017>
- Li, W.-Z., Stirling, K., Yang, J.-J., & Zhang, L. (2020). Gut microbiota and diabetes: From correlation to causality and mechanism. *World Journal of Diabetes*, 11(7), 293-308. <https://doi.org/10.4239/wjd.v11.i7.293>
- Li Xin-Li. (2012). Effects of levofloxacin hydrochloride on the intestinal microbiota of BALB/c mice by PCR-DGGE. *African Journal of Microbiology Research*, 6(14). <https://doi.org/10.5897/ajmr11.1421>
- Liu, X., He, S., Li, Q., Mu, X., Hu, G., & Dong, H. (2020). Comparison of the Gut Microbiota Between Pulsatilla Decoction and Levofloxacin Hydrochloride Therapy on *Escherichia coli* Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00319>
- Löfmark, S., Edlund, C., & Nord, C. E. (2010). Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clinical Infectious Diseases*. 50(Supplement_1), S16-S23.
- Maeda, N., Tamagawa, T., Niki, I., Miura, H., Ozawa, K., Watanabe, G., Nonogaki, K., Uemura, K., & Iguchi, A. (1996). Increase in insulin release from rat pancreatic islets by quinolone antibiotics. *British journal of pharmacology*, 117(2), 372.
- Mathur, R., Chua, K. S., Mamelak, M., Morales, W., Barlow, G. M., Thomas, R., Stefanovski, D., Weitsman, S., Marsh, Z., Bergman, R. N., & Pimentel, M. (2016). Metabolic effects of eradicating breath methane using antibiotics in prediabetic subjects with obesity. *Obesity*, 24(3), 576-582. <https://doi.org/10.1002/oby.21385>
- Meier, M. J., Nguyen, K. C., Crosthwait, J., Kawata, A., Rigden, M., Leingartner, K., Wong, A., Holloway, A., Shwed, P. S., Beaudette, L., Navarro, M., Wade, M., & Tayabali, A. F. (2021). Low dose antibiotic ingestion potentiates systemic and microbiome changes induced by silver nanoparticles. *NanoImpact*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2021.100343>
- Micheli, L., Sbrilli, M., & Nencini, C. (2012). Severe hypoglycemia associated with levofloxacin in Type 2 diabetic patients receiving polytherapy: two case reports. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 50(4), 302-306. <https://doi.org/10.5414/CP201594>
- Pryor, R., Martinez-Martinez, D., Quintaneiro, L., & Cabreiro, F. (2019). The Role of the Microbiome in Drug Response. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2020, 60, 11-12. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010919>

- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Rodrigues, R. R., Greer, R. L., Dong, X., DSouza, K. N., Gurung, M., Wu, J. Y., Morgun, A., & Shulzhenko, N. (2017). Antibiotic-induced alterations in gut microbiota are associated with changes in glucose metabolism in healthy mice. *Frontiers in Microbiology*, 8(NOV). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02306>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 2016(10). <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Saraya, A., Yokokura, M., Gono, T., & Seino, S. (2004). Effects of fluoroquinolones on insulin secretion and β -cell ATP-sensitive K⁺ channels. *European Journal of Pharmacology*, 497(1), 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.06.032>
- Schwabe, R. F., & Jobin, C. (2013). The microbiome and cancer. *Nature Reviews Cancer* (C. 13, Sayı 11, ss. 800-812). <https://doi.org/10.1038/nrc3610>
- Sedighi, M., Razavi, S., Navab-Moghadam, F., Khamseh, M. E., Alaei-Shahmiri, F., Mehrtash, A., & Amirmozafari, N. (2017). Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals. *Microbial Pathogenesis*, 111, 362-369. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.038>
- Sekirov, I., Russell, S. L., Caetano, L., Antunes, M., & Finlay, B. B. (2010). *Gut Microbiota in Health and Disease*. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009.-Gut>
- Sharma, S., & Tripathi, P. (2019). Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go? *Journal of Nutritional Biochemistry* (C. 63, ss. 101-108). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.10.003>
- Szymański, H., Armańska, M., Kowalska-Duplaga, K., & Szajewska, H. (2008). Bifidobacterium longum PL03, Lactobacillus rhamnosus KL53A, and Lactobacillus plantarum PL02 in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: A randomized controlled pilot trial. *Digestion*, 78(1), 13-17. <https://doi.org/10.1159/000151300>
- Uptodate. (2023, Ağustos 27). *Neomycin: Drug information*. <https://www.uptodate-com./contents/neomycin-drug-information/>
- Xu, J., & Gordon, J. I. (2003). Honor thy symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(18), 10452-10459.
- Yang, B., Wei, J., Ju, P., & Chen, J. (2019). Effects of regulating intestinal microbiota on anxiety symptoms: A systematic review. *General Psychiatry* (C. 32, Sayı 2). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/gpsych-2019-100056>
- Yang, J. Y., Lee, Y. S., Kim, Y., Lee, S. H., Ryu, S., Fukuda, S., Hase, K., Yang, C. S., Lim, H. S., Kim, M. S., Kim, H. M., Ahn, S. H., Kwon, B. E., Ko, H. J., & Kweon, M. N. (2017). Gut commensal Bacteroides acidifaciens prevents obesity and improves insulin sensitivity in mice. *Mucosal Immunology*, 10(1), 104-116. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.42>
- Zarrinpar, A., Chaix, A., Xu, Z. Z., Chang, M. W., Marotz, C. A., Saghatelian, A., Knight, R., & Panda, S. (2018). Antibiotic-induced microbiome depletion alters metabolic homeostasis by affecting gut signaling and colonic metabolism. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05336-9>
- Zhang, X., Shen, D., Fang, Z., Jie, Z., Qiu, X., Zhang, C., Chen, Y., & Ji, L. (2013). Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS ONE*, 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071108>

8. EKLER

Ek 1 Etik Kurul Onay Formu



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2022 – 022

Karar Tarihi: 06.07.2022

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN ve Ecz. Ozan ŞEN 'in sunduğu "**Antibiyotikler ile Ratlarda Oluşturulan Mikrobiyota Hasarına Bağlı Kan Glukoz Düzeylerindeki Değişimin ve Probiyotiklerin Bu Değişimi Önlenme Potansiyelinin İncelenmesi**" başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede toplam 56 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında dekapite edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ

Başkan