

# İntestinal Mikrobiyota ve Fekal Transplantasyon

Gürkan ÇELEBİ, Ahmet UYGUN

GATA Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara

## GİRİŞ

İnsan vücudunda birçok organ ve dokuda kolonize olmuş toplam  $10^{14}$  mikroorganizma olduğu tahmin edilmektedir. Bir başka deyişle insan vücudundaki mikroorganizma sayısı, toplam insan hücre sayısından 10 kat fazladır. Bu mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmakla birlikte, virüsler, funguslar ve birçok ökaryotik mikroorganizma insan mikrobiyotasında yerini almaktadır. İnsan mikrobiyotasının büyük kısmı başta gastrointestinal sistem olmak üzere deri, genitoüriner sistem ve solunum sisteminde kolonize olmuştur. Gastrointestinal sistem yaklaşık  $200 \text{ m}^2$  yüzey alanı ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içermesi nedeniyle kolonizasyon için en uygun ortamı sunmaktadır. Bu nedenle kolon, tek başına vücudumuzdaki mikroorganizmaların %70'inden fazlasını barındırmaktadır (1).

İntestinal mikrobiyota; insanlarda başta beslenme olmak üzere, metabolik, fizyolojik ve immünojenik olarak birçok olayda önemli rol oynamaktadır. İntestinal sistem mikrobiyotası tüm bu özellikleri nedeniyle ilgi odağı haline gelmiş ve son yıllarda yapılan çok sayıda çalışmanın konusu olmuştur. Bu çalışmaların artması ile birlikte sanıldığı gibi aksine, gastrointestinal sistem florasının fizyolojik koşullar dışında günümüzde en önemli mortalite ve morbidite nedenleri olan obezite, metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve ateroskleroz ile yakın ilişkisi olduğu anlaşılmıştır (2, 3).

Yapılan araştırmalar, gastrointestinal sistem mikrobiyotası ile ilgili bilgileri artırarak geçmişte bir çok soru işaretini barındıran konu ile ilgili birçok veriyi gözler önüne sermiştir. Bu bilgiler ışığında, intestinal mikrobiyotanın önemi daha iyi anlaşılmış ve bu derleme ile son yıllardaki gelişmeler özetlenmiştir.

## İNTESTİNAL MİKROBİYOTA

### İntestinal Mikrobiyota Nedir?

İnsanlarda intestinal yol mikrobiyotası çok sayıda ve çeşitlilikte mikroorganizma tarafından oluşturulmuş kompleks ve dinamik bir ekosistemdir. Bu ekosistemde bulunan bakteri sayısı ve çeşitliliği konusunda net bilgilere ulaşmak oldukça zordur. Mevcut kültür yöntemlerinin intestinal sistemdeki tüm bakterileri kültüre edebilmedeki yetersizliği, tüm araştırmacılarca kabul edilen bir gerçektir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda gastrointestinal sistemde 400 kadar bakteri izole edilebilmişse de toplamda 35.000'den fazla bakteri türünün olduğu tahmin edilmektedir (4).

Gastrointestinal sistem mikrobiyotasında; anaerob, fakültatif anaerob, aerob bakteriler bulunmaktadır. Ancak intestinal mikrobiyotanın en önemli kısmını başta *Bacteroides* ve *Firmicutes*'lerin yer aldığı anaerob bakteriler oluşturur. *Bacteroides* ve *Firmicutes*'lerin dışında intestinal florada bulunan diğer önemli anaerob bakteriler arasında *Proteobacteria*,

*Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Lentisphaerae*, *Spirochaeta* ve *Cyanobacteria*'lar sayılabilir (5).

Fizyolojik koşullarda sindirim sistemi mikrobiyotasında son derece dinamik bir denge söz konusudur. Günlük diyet ve çevre değişiklikleri ile mikrobiyotada kısa süreli değişiklikler gözlemlendiği gibi, yaşlanmayla birlikte uzun süreli ve kalıcı değişiklikler meydana gelebilir. Özellikle diyet alışkanlığı gastrointestinal sistem mikrobiyotasını etkileyen majör faktörlerden birisidir. Karbonhidratlardan zengin beslenme alışkanlığı, mikrobiyotada belirgin değişikliklere yol açarken; insanlarda özellikle inulin içeren prebiyotik tüketimi *F. Prausnitzii* ve *Bifidobacterium*'ların florada daha baskın hale gelmesine yol açmaktadır (6).

### İntestinal Mikrobiyotanın Oluşumu ve Gelişimi

İnsanlarda sindirim sistemi mikrobiyotası doğumdan hemen sonra şekillenmeye başlamaktadır. Doğum esnasında yenidoğan, vajinal kanaldaki birçok mikroorganizma ile karşılaşarak sindirim sistemi mikrobiyotasını oluşturur. Yenidoğanlarda yapılan çalışmalar, doğum şeklinin direkt olarak bebeğin sindirim sistemi mikrobiyotası ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Vajinal doğum ile dünyaya gelen bebeklerde, bebeğin intestinal mikrobiyotasını, anne genitouriner sistem mikroorganizmaları oluştururken, sezaryen ile doğum gerçekleştiğinde, bebeğin intestinal sisteminin deri mikroorganizmalarına benzer şekilde oluştuğu görülmüştür (7).

İnfantlarda gastrointestinal sistem mikrobiyotasını etkileyen diğer önemli faktörler; beslenme şekli, gestasyonel yaş, hospitalizasyon ve infantil dönemde sık antibiyotik kullanımıdır. Bu konuya en iyi örneği anne sütü ile beslenen infantlardaki mikrobiyota ile, formül mamalar ile beslenen infantların mikrobiyotası arasındaki fark gözler önüne serer. Anne sütü ile beslenen infantlarda mikrobiyotanın çoğunu Bifidobakteri'ler oluştururken, formül mamalar ile beslenen infantların gastrointestinal sistem mikrobiyotasında *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* ve *Lactobacillus*'lar baskın haldedir (8). Yenidoğan ve infant döneminde, intestinal mikrobiyota oluşumundaki bu farklılık, immün sistem gelişiminde ve muhtemelen çocukluk çağı allerjik hastalıklarında önemli rol oynamaktadır (9). Doğumdan sonraki süreçte sindirim sistemi mikroorganizmaları dinamik bir denge içerisinde şekillenmeye devam ederler ve bir yaşından sonra artık intestinal mikrobiyota genç bir insanın sindirim sistemi mikrobiyotasına benzer hale gelir.

Erişkin dönemde intestinal mikrobiyota son şeklini almıştır ve bu dönemde intestinal mikrobiyotanın yaklaşık %95'ini *Firmicute* ve *Bacteroides*'ler oluşturur. Yaşlanma ile birlikte sindirim sistemi mikrobiyotasında bir takım değişiklikler meydana gelir. Geriatrik popülasyonlarda yapılan çalışmalar yaşlanma ile mikrobiyotada, hem bakteri sayısında hem de çeşitliliğinde belirgin azalmalar meydana geldiğini göstermiştir. Diğer yandan yaşlılıkta mikrobiyotadaki değişiklikler; diğer sistemik hastalıklar, diyet alışkanlıkları, kullanılan ilaçlar ve bireyin yaşadığı çevre (bakım evi, hastane, ev vb.) ile sıkı ilişki göstermektedir (10, 11)

### İntestinal Yol Boyunca Mikrobiyota

İntestinal kanal boyunca mikroorganizmalar; hem gastrointestinal sistem mukozal immünitesinin, hem de sistemik immünitenin oluşumu ve gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. İnsanlarda oral kavitede kolonize olan mikroorganizmaların kombinasyonu, intestinal sistemin genel mikrobiyotasına benzerlik gösterir. Bu mikroorganizmalar; *Firmicute* (%70), *Bacteroidetes* (%10), *Actinobacteria* (%10), *Fusobacteria* (%5), *Proteobacteria* (%4) ve *Spirochaeta*, *TM7*, *SR1*, *Tenericute* (%1) şeklinde özetlenebilir. İlginç olarak son yıllarda yapılan bir çalışmada, insanlarda oral kavite mikrobiyotasındaki değişikliklerin, günümüzde en sık mortalite nedeni olan ateroskleroz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (12).

Sağlıklı gönüllülerde biyopsi alınıp kültüre edilerek bakteri izolasyonu yapılan çalışmalarda, mide içeriğinin her gramında 10 bakteri bulunduğu ve bu bakterilerin başlıca *Lactobacillus*, *Veillonella* ve *Helicobacter*'den oluştuğu rapor edilmiştir. Duodenumda  $10^3$ /gram, jejunumda  $10^4$ /gram ve ileumda ise  $10^7$ /gram bakteri olduğu saptanmıştır. İncebağırsaktan izole edilen bakteriler ise sırasıyla; *Bacillus*, *Streptococcus*, *Actinobacteria*, *Actinomycetia* ve *Corynebacteria*'lar olarak özetlenebilir. Kolona geçildiğinde ise bakteri sayısı gram başına  $10^{12}$ 'ye çıkmaktadır. Bu bakterileri başlıca, *Bacteroidetes*, *Lachnospiraceae* ve *Firmicute*'lar oluşturmaktadır.

İntestinal kanal boyunca gastrointestinal sistem epitel hücreleri üzerinde kalın ve kimyasal olarak kompleks bir mukus tabakası bulunmaktadır. Bağırsaklarda *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteri*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* ve *Ruminococcus*'lar mukus tabakasının üzerinde bulunurlar ve feçesin yapısına katılırlar. Diğer yandan, *Clostridium*, *Lactobacil* ve *Enterococcus*'lar daha derinlerde kolonize olabilmektedirler. Bu bakterilere mukus tabakası içeri-

sinde ve bağırsak epitel hücrelerinin üzerinde rastlamak mümkündür (13).

### Sağlıklı İnsanlarda İntestinal Mikrobiyota

Beslenme alışkanlıklarının, intestinal mikrobiyotanın oluşumu üzerine direkt etkili olduğu, aynı zamanda da immün sistem gelişiminde en önemli rolü oynadığı bilinmektedir. Diğer yandan intestinal mikrobiyota, immün sistem dışında birçok metabolik olayda etkili olmaktadır. Günümüzde gastrointestinal sistem mikrobiyotasının obezite, diyabetes mellitus, ateroskleroz ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı patogeneğinde etkili olduğu bilinmektedir (14-16). Son yıllarda yapılan bu çalışmalar ile intestinal mikrobiyotanın aslında birçok metabolik olayda, sistemik ve mukozal immün sistem fonksiyonlarında önemli işlevleri olan bir "organ" gibi davrandığı anlaşılmıştır. Gastrointestinal sistem mikrobiyotasındaki mikroorganizmaların fizyolojik olaylardaki işlevleri kısaca 5 ana başlık halinde özetlenebilir:

1. İmmün sistem gelişimi üzerine etkileri
2. Gastrointestinal epitelin matürasyonu üzerine etkileri
3. Beslenme üzerine etkileri
4. Ksenobiyotik ve ilaç metabolizması üzerine etkileri
5. Hormonal etkileri

**1. İmmün sistem gelişimi üzerine etkileri:** Gram negatif bakteriler peptidoglikanlar ve lipopolisakkaritler üzerinden sekretuar Ig A ve intestinal alkalin fosfataz üretimini artırarak immün sistem gelişimine katkıda bulunurlar. Diğer yandan, *B. fragillis* polisakkarit A sayesinde, *B. thetaiotaomicron* ise Nükleer Faktör Kapa B (NFkB) inaktivasyonu ile hücrel immünite, lenfoid organogenez ve mukozal immünite üzerinde etkili olur. Bunların dışında Laktobasiller ve *E. coli* ise hem mukozal bariyerin oluşumuna katkıda bulunurken, hem de dendritik hücrelerin immün toleransını artırarak özellikle inflamatuvar bağırsak hastalığında önemli rol oynayan immün toleransın oluşmasını sağlarlar. İntestinal mikrobiyotanın mukozal ve sistemik immünite üzerine olan bu etkileri göz önüne alındığında; gastrointestinal sistemin, allerjik ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde mikroorganizmaların kritik öneme sahip oldukları kabul edilmektedir.

**2. Gastrointestinal epitelin matürasyonu üzerine etkileri:** İntestinal mikrobiyotanın diğer bir önemli etkisi ise, bebeklik çağından itibaren gastrointestinal trakt epitelinin ma-

türasyonuna ve gastrointestinal sistemin fonksiyonel olgunlaşmasına olan katkılarıdır. *B. thetaiotaomicron* bağırsak epitel hücrelerine glukoz girişini artırarak intestinal epitelin beslenmesinde rol oynarken, aynı zamanda bağırsak peristaltizminin matürasyonuna da katkıda bulunur. *B. infantis* ise bu matürasyon sürecine anjiogenezi indükleyerek destek verir. İntestinal mikrobiyota bu şekilde doğumdan itibaren intestinal sistemin epitelizasyonunda ve fonksiyonel matürasyonunda görev yapmaktadır.

**3. Beslenme üzerine etkileri:** *B. thetaiotaomicron* ve *Bifidobacterium* genusu özellikle kısa zincirli yağ asitlerinin metabolizmasında ve linoleik asitin konjugasyonunda rol almaktadır. Lipid metabolizmasındaki bu etkileri ile intestinal mikrobiyota, yağ asitlerinin sindiriminde vazgeçilmez bir işlevi sessiz sedasız yerine getirmektedir.

**4. Ksenobiyotik ve ilaç metabolizması üzerine etkileri:** İntestinal mikrobiyotanın diğer bir önemli görevi ksenobiyotik metabolizması ve ilaç eliminasyonu ile ilgilidir. Bu konuya en iyi iki örneği, *O. formigenes*'in oksalat ekskresyonunu azaltarak ve *Clostridium*'un linoleik asitin konjugasyonunu sağlayarak ksenobiyotik ve ilaç metabolizmasına sağladığı katkı oluşturur.

**5. Endokrin sistem üzerine etkileri:** Gastrointestinal sistem mikrobiyotasının en şaşırtıcı işlevlerinden biri de endokrin sistem ve buna bağlı olarak insan davranışları üzerine etkileridir. *B. infantis*, hipotalamo-pitüiter aksın strese verdiği kortikotropin salıcı hormon ve adrenokortikotropik hormon yanıtını normalize ederek vücudun strese verdiği yanıtı düzenler ve dolayısıyla insan davranışları üzerinde etkili olur. Bu yönüyle bakıldığında intestinal mikrobiyota başta irritabl bağırsak hastalığı olmak üzere, gastrointestinal sistemin fonksiyonel hastalıklarında karşımıza çıkabilir.

### İntestinal Mikrobiyotanın Hastalıklarla İlişkisi

İntestinal mikrobiyotanın, gastrointestinal sistem epitelinin matürasyonu ve bağırsak peristaltizminin gelişimi üzerine etkileri göz önünde bulundurulduğunda, inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi inflamasyon ile seyreden ve irritabl bağırsak hastalığı gibi motilite ile ilişkili hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (17,18). Ancak intestinal mikrobiyota; inflamasyon, immün sistem, beslenme ve hatta endokrin sistem ile olan sıkı ilişkileri nedeniyle, gastrointestinal sistem dışında da şaşırtıcı sayıda hastalığın patogeneğinde etkilidir.

Beslenme ve metabolizma üzerine olan etkileri nedeniyle başta obezite, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet olmak üzere, özellikle çocuklarda yapılan çalışmalarda atopik dermatit ve birçok allerjik hastalıkta karşımıza çıkmaktadır. Diğer yandan, intestinal mikrobiyotanın inflamasyon kaskadıyla olan yakın ilişkisi, romatoid artrit gibi otoinflamatuar hastalıklarda da bağırsak mikroorganizmalarının etkili olmasına neden olmaktadır. Görüldüğü üzere intestinal mikrobiyota söz konusu olduğunda otizmden başlayarak, fibromiyaliye kadar uzanan çok geniş bir hastalık spektrumunda bağırsak mikroorganizmalarından bahsetmek mümkündür (19-21).

### **İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında İntestinal Mikrobiyota**

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), genetik predispozisyonu olan bireylerde, immün sistemin temel rol oynadığı relaps ve remisyonlar ile seyreden, kronik intestinal inflamasyon ve mukozal hasar ile karakterize bir hastalık grubudur. Ülseratif kolitte, Crohn hastalığına göre daha sık olmak üzere malignite potansiyeli olması dışında İBH, kişinin yaşam kalitesini ile ilgili derecede bozabilen bir hastalık grubudur. İBH patogenezinde genetik faktörler ve immün sistem üzerinde uzun süre durulmuş ve çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak son yıllarda yapılan birçok çalışmada bu olgularda intestinal mikrobiyotanın, sağlıklı gönüllülere göre bakteri miktarı, tür sayısı ve kompozisyonunun farklı olduğu gösterilmiştir. İnflamatuvar bağırsak hastalarında, mukozal biyopsi alınarak yapılan çalışmalarda, sağlıklı insanlarda bağırsak florasının önemli kısmını oluşturan *Firmicute* ve *Bacteroidetes*'lerin İBH olgularında belirgin olarak azaldığı, bununla birlikte *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* genuslarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür (22-24). Bu bilgiler ışığında İBH olgularında, intestinal mikrobiyota içeriğinin sağlıklı insanlara göre farklı olduğu söylenebilir. Ancak, mikrobiyotadaki bu değişikliklerin hastalık patogenezini ve seyri üzerine etkileri konusundaki bilgilerimiz sınırlıdır.

İBH olgularında *Firmicute* genusundaki azalmanın özellikle *Clostridium IX* a ve VI gruplarında daha çarpıcı şekilde karşımıza çıktığı gözlenmiştir. *Clostridium* ve *Bacteroidetes*'ler kolonda kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde, karbonhidrat fermantasyonunda ve bütirat üretiminde majör rol oynamaktadırlar. İBH olgularında bu iki bakteri türündeki azalma, kolon epitel hücreleri için enerji kaynağı olan bütirat miktarının azalmasına ve dolayısıyla da epitel hücrelerinin maturasyo-

nun inhibe olmasına neden olur. Diğer yandan, bütirat histonların hiperasetilasyonu yoluyla NFKB yolağını inhibe ederek, proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe eder. Bunların dışında bütiratın bağırsak mukozası üzerine diğer bir önemli etkisi de müsin sekresyonunu ve antimikrobiyal peptidlerin üretimini indükleyerek mukozal bariyeri güçlendirmesidir. İBH olgularında bütirat seviyesindeki azalma, bu mekanizmalar nedeniyle inflamatuvar bağırsak hastalığının karakteristik özelliği olan kronik inflamasyon ve mukozal hasarlanmayı beraberinde getirir (25). Bu verilerin ortaya çıkması ile birlikte *Clostridium IX* a ve VI gruplarını içeren probiyotik ürünlerin kullanımı inflamatuvar bağırsak hastalığının tedavisinde gündeme gelmiştir

İnflamatuvar bağırsak hastalığı patogenezinde intestinal mikrobiyotada karşımıza çıkan diğer genus *Desulfovibrionales* ve *Desulfobacterales* gibi sülfatı indirgeyen bakterilerdir. İnflamatuvar bağırsak hastalığında sülfatı indirgeyen bakterilerin aşırı çoğalması sülfatın indirgenerek intestinal lümeninde aşırı miktarda hidrojen sülfid oluşmasına yol açar. Hidrojen sülfid ise bağırsak epitel hücreleri üzerine direkt toksik etkisi, bakteriyel fagositozun azalması gibi önemli zararlı etkileri ile İBH patogenezinde rol oynar (26).

Özet olarak; faydalı flora bakterilerinin ve bunların mukozal koruyucu etkileri olan metabolik ürünlerinin miktarındaki azalma ile birlikte, zararlı bakterilerin ve bunların toksik metabolitlerindeki artış; bağırsak lümenindeki mikroçevreyi bozarak inflamatuvar bağırsak hastalığının etyopatogenezinde rol oynuyor gibi görünmektedir.

### **İntestinal Mikrobiyota ve İritabl Bağırsak Sendromu**

İritabl bağırsak sendromu (İBS) rekürren karın ağrısı, karında rahatsızlık hissi, ishal ve/veya kabızlıkla seyredilen fonksiyonel bağırsak hastalığıdır. Etiyolojisinde inflamasyon, psikolojik faktörler, genetik yatkınlık ve diyetle ilişkili faktörler uzun süre araştırılmışsa da tam olarak anlaşılamamış kompleks bir etyopatogenez söz konusudur. İBS hastalarında, intestinal mikrobiyota değişikliğini araştırmak için yapılan biyopsi, polimerize zincir reaksiyonu ve FISH (Floresan in situ hibridizasyon) yöntemleri ile yapılan çok sayıda çalışmada, çoğunlukla İBS olgularında sağlıklı kontrollere göre mikrobiyotanın farklı olduğu ortaya konulmuştur. Ancak, İBH'da olduğu gibi spesifik bakteri genuslarındaki değişiklikler saptanmaya çalışılmışsa da yapılan çalışmalar, bakteri genuslarındaki değişiklikleri farklı rapor etmişler ve bu konuda bir konsensus

sağlanamamıştır. Bunlarla birlikte özellikle diyare dominant İBS olgularında intestinal mikrobiyotadaki değişikliğin, konstipasyon ile seyreden ve miks tipteki İBS olgularına göre daha çarpıcı olduğu bildirilmiştir (27).

İBS'te intestinal mikrobiyotadaki değişiklikleri araştıran çalışma sayısı oldukça fazla olmasına rağmen, gerek yapılan çalışmalardaki olgu sayısının azlığı, gerekse rapor edilen sonuçların çelişkili olması nedeniyle, bu konuda daha geniş çaplı çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

### **Obezite, Metabolik Sendrom ve Tip 2 Diyabette İntestinal Mikrobiyota**

Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilen obezite, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet gibi önemli hastalıkların tedavisinde yaşam şekli değişikliğinin (diyet, egzersiz) her zaman olumlu sonuçlar vermediği bilinen bir gerçektir. Öte yandan, intestinal mikrobiyotanın özellikle polisakkarit ve oligosakkaritlerin metabolizmasında ve kısa zincirli yağ asitlerinin üretimindeki fonksiyonları göz önüne alındığında, araştırmacıların dikkatlerini bu olgularda intestinal mikrobiyota üzerine yoğunlaştırmaları doğal karşılanmalıdır.

Obez ve tip2 diyabet olgularında intestinal mikrobiyotaya ilişkin içeriğin en dikkat çekici verileri, bu hastalarda *Bacteroidetes*'lerdeki artış ve buna karşın *Firmicute* genusundaki azalmadır. Diğer yandan, *Prevotella* genusundaki artış ile birlikte *Bifidobacterium* miktarındaki azalma birçok obez ve diyabetik olguda karşımıza çıkan mikrobiyota değişikliğidir. *Bacteroidetes/Firmicutes* ve *Bacteroides-Prevotella/C. coccoides-E. rectales* oranları plazma glukoz düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermektedir (28).

Bu olgularda bağırsaklarda aşırı gram negatif bakteri çoğalması ile subklinik inflamasyon arasında bir ilişki mevcuttur. Gram negatif bakterilerin aşırı çoğalması ile dolaşımdaki bakteriyel lipopolisakkaritlerin miktarı artar. Bu da kronik bir endotoksemiye ve sonuçta insülin direncine yol açan subklinik inflamasyona neden olur. Enterositlerin yüzeyinde bulunan Toll Like reseptörler (TLR) bakteriyel lipopolisakkaritleri tanıyarak, NFKB yolağını aktive ederek inflamasyonu başlatırlar. TLR'ler (özellikle TLR-4) inflamasyonu başlatarak insülin direncinin oluşmasında diğer önemli mekanizmayı oluştururlar (29).

### **Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığında İntestinal Mikrobiyota**

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (AOYKH), en sık gö-

rülen kronik karaciğer hastalığıdır ve sıklığı Amerika Birleşik Devletler'inde %10-24 olarak bildirilmektedir (30). Karaciğer hastalıkları ile intestinal flora arasındaki ilişki son 10 yılda çok daha iyi anlaşılmağa başlanmıştır. Son yıllarda özellikle AOYKH olgularında, intestinal mikrobiyotayı araştıran çalışmaların artması ile aslında karaciğer ile intestinal flora arasında sürekli bir iletişim olduğu ortaya çıkmıştır.

AOYKH'nın patogenezi ile ilgili geçmişte yapılan çalışmalarda, insülin direnci ve oksidatif stresin temel rolü oynadığı iki vuruş teorisi vurgulanmaktaydı. Ancak son yıllarda AOYKH'nın patogenezinin daha karmaşık olduğu ve AOYKH'da karşımıza çıkan inflamasyonda intestinal mikrobiyotanın önemli rol oynadığı anlaşıldı. AOYKH'nın patogenezindeki inflamasyonda, intestinal mikrobiyotanın önemli bir etken olduğunun anlaşılması ile birlikte, günümüzde AOYKH'nın patogenezinde daha yaygın kabul gören multi paralel vuruş hipotezi ortaya çıkmıştır (31).

Çoğunlukla obezitenin eşlik ettiği AOYKH olgularında intestinal lümeninde bakteriyel aşırı çoğalma ile birlikte, bakteriyel endotoksinlere karşı intestinal permeabilitenin arttığı, birçok çalışmada gösterilmiştir. AOYKH olgularında yapılan çalışmalarda intestinal florada, *Bacteroidetes* ve *Bifidobacterium*'larda belirgin azalmaya karşılık, *Actinobacteria* ve *Staphylococcus aureus* genuslarında artış olduğu gözlenmiştir (32). AOYKH oluşumunda ve progresyonunda bakteriyel aşırı çoğalma ve intestinal mikrobiyota içeriğindeki değişiklik başlıca iki mekanizma yolu ile karşımıza çıkar;

1. Endojen etanol üretiminde artış
2. Bakterilerin direkt olarak veya lipopolisakkaritler yolu ile intestinal epitel hücrelerinde ve karaciğerdeki kupffer hücrelerinde inflamatuvar sitokin üretimini artırması.

Gerçekten de yapılan çalışmalarda AOYKH olgularının nefeslerinde etanol miktarının yüksek olduğunun saptanması, bu olgularda endojen etanol üretimindeki artışın patogenezdaki önemini doğrular niteliktedir. Endojen etanol üretimindeki artış monosakkaritlerin, *Actinobacteria* ve *Staphylococcus aureus*'larca fermentasyonundan kaynaklanır. Oluşan etanol intestinal epitel hücrelerine toksik etki gösterek tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'nın başını çektiği inflamasyon sürecini başlatır. Oluşan inflamasyon, bir yandan insülin direncinin gelişmesine ve/veya artmasına neden olurken, diğer yandan steatohepatitin şiddetlenmesinde rol oynar. AOYKH

olgularında oluşan hepatosellüler hasarda, tıpkı alkole bağlı yağlı karaciğer hastalığında olduğu gibi etanolün karşımıza çıkması her iki hastalıkta da karaciğerde benzer fizyopatolojik mekanizmalarının yürüdüğünü göstermektedir.

Diğer yandan, obezite ve AOYKH olgularında intestinal florada gram negatif bakteri miktarındaki artış, bu mikroorganizmaların bağırsak epiteline direkt toksik etkisi ile ve/veya lipopolisakkarit yapısındaki endotoksinler vasıtası ile inflamasyonu tetiklemesine yol açar. Gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritler enterositlerin yüzündeki toll like reseptör-4 (TLR4)'leri kullanarak intestinal dolaşıma girerler ve sistemik inflamasyonu başlatırlar. Bu inflamasyon neticesinde ortaya çıkan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gibi serbest oksijen radikalleri AOYKH patogeneğinde iyi bilinen oksidatif stres sürecine katkıda bulunur. AOYKH'da intestinal mikrobiyotanın da etkisi ile oluşan inflamasyon ve oksidatif stres stellat hücrelerin aktive olmasına yol açar. Stellat hücre aktivasyonu bu olgularda artık siroza kadar ilerleyen süreçte sürekli karşımıza çıkacak olan fibrozisi başlatacaktır

AOYKH'da intestinal mikrobiyotanın öneminin keşfedilmesi ile birlikte, bu olguların tedavisinde mikrobiyota üzerine geliştirilen tedavi modalitelerinin kullanımı da birbiri ardına gündeme gelmiştir. Son yıllarda özellikle fekal transplantasyon ve probiyotiklerle yapılan hem hayvan hem de insan çalışmalarında alınan başarılı sonuçlar, obezite ve AOYKH'nın tedavisinde gelecek için ümit vermektedir (33)

### **İntestinal Mikrobiyotanın Kolelitiazis Üzerine Etkisi**

Anormal kolesterol ve safra asidi metabolizması, intestinal hipomotilite ve kronik inflamasyon; safra taşı oluşumuna neden olan primer mekanizmalardır. İntestinal mikrobiyotanın tüm bu mekanizmalarda önemli işlevleri olması, intestinal bakterilerin safra taşı oluşumunda karşımıza çıkmasını kaçınılmaz kılar.

Safra asitlerinden litojenik asitin, özellikle enterokok ve streptokoklar ile kontaminasyonu sonucu intestinal permeabiliteyi artırarak sistemik inflamasyonu indüklemesi, safra taşlarının oluşumuna zemin hazırlar. Bunun dışında, oluşan inflamasyonun safra kesesi motilitesini azaltması, safra taşlarının oluşumunda intestinal mikrobiyotanın diğer bir etkisidir (34).

### **Ailevi Akdeniz Ateşinde İntestinal Mikrobiyota**

İntestinal mikroorganizmaların inflamasyon ile olan sıkı iliş-

kisi göz önünde bulundurulduğunda, ailevi Akdeniz ateşi gibi kronik inflamasyon ile seyreden bir hastalıkta intestinal mikrobiyotanın karşımıza çıkması şaşırtıcı değildir. Bunu kanıtlayan çalışmalara bakıldığında gerçekten de; aktif ailevi Akdeniz ateşi olguları, remisyonadaki ailevi Akdeniz ateşi olguları ve sağlıklı gönüllülerin intestinal mikrobiyotasının karşılaştırıldığı çalışmalarda, ailevi Akdeniz ateşi atağında olan olguların bağırsak florasında bakteri çeşitliliğinin belirgin olarak azaldığı ve bakteri kompozisyonunun belirgin olarak değiştiği ortaya konulmuştur (35).

### **FEKAL TRANSPLANTASYON**

İntestinal mikrobiyotanın tahminlerin ötesinde birçok hastalıkta karşımıza çıkması mikrobiyotanın tedavide kullanılabilirliğini gündeme getirmiştir. İntestinal mikrobiyota ilk kez Eiseman ve arkadaşları tarafından 1958 yılında tedavide kullanılmıştır (32). Eiseman ve arkadaşları sağlıklı bireylerden aldıkları fekal mikrobiyotayı psödomembranöz enterokolitli hastalara, transplante ederek bugünkü fekal transplantasyonun (FT) temellerini atmışlardır. Eiseman ve arkadaşlarının aldığı başarılı sonuçlar daha sonra FT'nin kullanıldığı birçok çalışmaya ilham kaynağı olmuş ve bugün FT başta *C. difficile*'e bağlı psödomembranöz enterokolit olmak üzere, inflamatuvar bağırsak hastalığı, irritabl kolon sendromu, kronik konstipasyon ve AOYKH gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılır hale gelmiştir (33)

Günümüzde FT dışında, intestinal mikrobiyotanın probiyotik, prebiyotik ve simbiyotik gibi ürünlerle modifiye edilmesi giderek popülerlik kazanan diğer bir tedavi yöntemidir. Gerçekten de hastalığa yol açan intestinal mikrobiyotanın normal flora bakterileri ile replase edilmesi ve/veya prebiyotiklerle normal flora bakterilerinin gelişiminin indüklenmesinin, 2000'li yılların başından itibaren yaygın olarak kullanıma girmesi ile özellikle kronik konstipasyon, irritabl kolon sendromu, hatta obezite ve AOYKH'da yüz güldürücü sonuçlar alınmıştır (36). Gerek FT, gerekse probiyotiklerle ilgili çalışmalar arttıkça intestinal mikrobiyotanın bir tedavi modalitesi olarak yakın gelecekte hak ettiği yeri bulacağı düşünülmektedir.

### **Fekal Transplantasyon**

FT, sağlıklı bireylerden alınan gaitanın suspansiyon haline getirilerek enema, nazoduodenal/nazojejunal sonda veya endoskopik yöntem ile hasta bireyin intestinal lümenine veril-

mesidir. Eiseman ve arkadaşlarının ilk kez psödomembranöz enterokolitli 4 olguda enema ile fekal transplantasyon yaparak aldığı başarılı sonuçlardan sonra, refrakter *Clostridium difficile* infeksiyonunun tedavisinde günümüzde %95 kür oranı ile tedavide altın standart haline gelmiştir (37). Psödomembranöz enterokolitte alınan başarılı sonuçlardan sonra son yıllarda, başta İBH, kronik konstipasyon ve diyare, İBS gibi gastrointestinal sistemle ilişkili hastalıklar başta olmak üzere parkinson hastalığı, idiyopatik trombositopenik purpura ve diyabette de çalışmaların güncel konusu haline gelmiştir (38)

### Hangi Hastalara FT Yapılabilir?

FT günümüze kadar yapılan çalışmalara bakıldığında, 2 ila 90 yaş arasındaki olgulara başarı ile uygulanmıştır. Çocukluk çağında ve geriatric popülasyonda en sık endikasyon psödomembranöz enterokolit iken; erişkin yaşlarda gastrointestinal sistemle ilgili olarak İBH, İBS, kronik diyare/konstipasyon, soliter rektal ülser ve diğer kronik kolon ülserleridir. Günümüzde FT'nin en sık yapıldığı endikasyonlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Eiseman ve arkadaşlarının yaptığı ilk çalışma başta olmak üzere FT ile ilgili çalışmalara bakıldığında birçok komorbid hastalığı olan olgularda dahi FT'nin majör bir komplikasyon gelişmeden uygulanabilen güvenli bir tedavi modalitesi olduğu söylenebilir.

### FT İçin Hasta Hazırlığı Nasıl Yapılmalıdır?

Fekal transplantasyon yapılacak hastanın hazırlığı, transplantasyonun yapılma şekline göre değişiklik göstermektedir. Bu konuda yayınlanmış bir kılavuz olmamakla birlikte, yapılan çalışmalara bakıldığında, kolonoskopi veya enema ile FT yapılacak hastalara, işlem öncesinde çoğunlukla laksatif ve/veya

ya purgatiflerle (polietilen glikol, senna glikozitleri v.b) yüksek lavman yapıldığı görülmektedir. Bunun dışında, ülseratif kolitli olgulara FT öncesinde 7-10 gün boyunca metronidazol, vankomisin ve rifampisin uygulandığı bildirilmiştir. Diğer yandan, FT'dan sonra 60 gün boyunca *Saccharomyces boulardii* tedavisi uygulanan çalışmalar da mevcuttur. Bir başka çalışmada ise, kolon peristaltizmini azaltarak transplantasyon materyalinin kolon mukozasına daha çok temas etmesini sağlamak amacıyla FT'un hemen sonrasında loperamid tedavisi kullanılmıştır (39).

Sonuç olarak, kolonoskopi veya enema ile FT yapılacak olgulara işlem öncesinde laksatif ve/veya purgatiflerle (polietilen glikol, senna glikozitleri v.b) yüksek lavman yapılması uygundur. Nazoduodenal veya nazojejunal sonda ile FT yapılacak hastalarda özel bir hazırlık yöntemine gerek yoktur.

### FT'de Donör Seçimi

FT endikasyonlarında olduğu gibi, FT için donör seçimine ait bir kılavuz olmadığı göze çarpmaktadır. FT ile ilgili ilk yapılan çalışmalara bakıldığında, donörlerin genellikle hastanın birinci derece akrabalarından veya yakın akrabalarından seçildiği görülmektedir. Ancak daha sonraki çalışmalarda random donör seçimi ile yapılan çalışmalarda da başarılı sonuçlar alındığı bilinmektedir.

Günümüzde genel bir kabul olarak FT donörlerinin tam kan, rutin biyokimyasal analiz, gaita mikroskopisi, gaita kültürü, gaitada parazit yumurtası, gaitada *C. difficile* toksin A ve B gibi tetkiklerinin rutin olarak yapılması önerilmektedir. Diğer yandan donörler insan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV), hepatit B, hepatit C, sitomegalovirüs (CMV), Epstein-Barr virüs (EBV) gibi viral infeksiyonlar yönünden taranmalı, gastrointestinal sistemle ilgili İBH, İBS, gastrointestinal polip ve maligniteler kolonoskopi ile dışlanmalıdır. Bunların dışında donör adaylarının son 3 ay içerisinde intestinal mikrobiyota kombinasyonunu bozabilecek antibiyotik kullanımı, immünsüpresif kullanımı, kemoterapi gibi tedaviler açısından dikkatli şekilde sorgulanması önerilmektedir. İntravenöz ilaç bağımlıları, multipl cinsel partneri olanlar, homoseksüeller ve son 6 ay içerisinde dövme/piercing yaptıran kişiler, HIV ve hepatit gibi infeksiyon hastalıkları için yüksek risk grubunda olduğu değerlendirilerek donör olarak seçilmemelidir. FT'nin kontrendike olduğu durumlar Tablo 2'de özetlenmiştir.

Bunların dışında, FT donörleri için majör gastrointestinal sistem cerrahisi (Gastrik bypass op vb.), metabolik sendrom,

**Tablo 1.** Fekal transplantasyonun en sık kullanıldığı endikasyonlar

C. difficile enfeksiyonu
İnflamatuvar bağırsak hastalığı
İrritabl bağırsak sendromu
Kronik diyare
Kronik konstipasyon
Kronik kolon ülserleri/Soliter rektal ülser
Obezite
Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı

**Tablo 2.** Fekal transplantasyonun kontrendike olduğu durumlar

İmmünsüpresif tedavi
GİS maligniteleri
Kemoterapi/Radyoterapi
Aktif HIV, HBV, HCV enfeksiyonu
IV ilaç bağımlıları
Dövme/piercing yaptıran olgular
Multipl cinsel partneri olanlar
Homoseksüelite

bağ dokusu hastalığı gibi sistemik otoimmün hastalıklar, bronşial astma gibi alerjik hastalıklar ve kronik yorgunluk, fibromiyalji gibi kronik ağrı sendromları rölatif dışlama kriterlerini oluşturmaktadır (37).

### FT Nasıl Yapılır?

Donörden alınan feçes ilk 8 saatte alıcıya nakledilmesi önerilmektedir. Ancak, -20° C dondurularak 1-4 hafta saklanmış feçes örneklerinin transplantasyonu ile de benzer sonuçlar alınmıştır. Transplante edilecek feçes miktarı değişkenlik göstermekle birlikte, genellikle yapılan çalışmalarda 50 ila 200 gram arasında feçes kullanılmıştır. Donörden alınan feçes 200 ila 500 ml serum fizyolojik ile dilüe edilerek bir karıştırıcı (blender gibi) ile homojenize olacak şekilde karıştırılır. Homojenize olan transplant materyali, büyük partikülleri ayırmak amacıyla süzgeçten geçirilerek transplantasyona hazır hale getirilir ve enjektörlere çekilir.

Fekal transplantasyon materyali enema, kolonoskopi, nazogastrik/duodenal sonda veya özofagogastroduodenoskopi yöntemi ile uygulanabilir. 1989 yılında enema en sık kullanılan yöntem olmakla birlikte, 2000'li yıllarda enema ile birlikte kolonoskopi de FT için en sık başvurulan yöntem olmuştur. Günümüzde FT yapılan çalışmalarda enema ve kolonoskopi olguların yaklaşık %75'inde kullanılırken, olguların %25'inde nazogastrik/duodenal sonda veya özofagogastroduodenoskopi yöntemi tercih edilmektedir. Üst GİS için yöntemler arasında başarı oranı yönünden fark olmadığı rapor edilmiştir. Alt GİS'te ise fekal transplantasyon materyali, enema ile sadece splenik fleksuraya kadar ulaşabilmekte iken, kolonoskopi ile transplantasyon materyali tüm kolona ve ileuma inoküle edilebilmektedir. Konsensus olmamakla birlikte FT'nin kolonoskopi ile yapılmasını öneren otörler çoğunluktadır (33).

### Gastrointestinal Sistem Hastalıklarında FT

FT gastrointestinal sistem ile ilişkili birçok hastalıkta kullanılmakla birlikte, refrakter *Clostridium difficile* enfeksiyonu, FT'nin ilk yapıldığı ve en çok çalışmanın olduğu endikasyondur. Günümüzde refrakter *Clostridium difficile* enfeksiyonunun tedavisinde FT, %90'lara varan başarıyla tedaviye altın standart haline gelmiştir.

Daha önce bahsedildiği gibi, İBH'da intestinal mikrobiyotada bir takım patolojik değişiklikler (disbiyozis) göze çarpmaktadır. Bu olguların intestinal mikrobiyotasında *Firmicute* ve *Bacteroidetes* gibi genusların sayısında %50'lere varan azalma ile birlikte, Enterobakterilerde gözle görülür artış saptanmaktadır. İBH olgularının intestinal mikrobiyotasındaki bu değişikliğin düzeltilmesinde FT uygulanabilmektedir. Gerçekten de son yıllarda inflamatuvar bağırsak hastalığı olgularında FT ile ilgili çalışmalar hızla artmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Uzun süreli refrakter ülseratif kolitli olgularda yapılan çalışmada FT ile bu olgularda tam remisyon sağlanmış ve kolonoskopik takiplerde remisyonun 13 yıla kadar sürebildiği gösterilmiştir (33). Crohn hastalığında ise FT ile ilgili çalışma sayısı daha azdır ve çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda FT ile 18 aya kadar tam remisyon bildiren çalışmalar olmakla birlikte, sulfosalazin ve steroid tedavisine refrakter Crohn hastalığı olgularında 4 ay süre ile remisyon rapor eden yayınlar da mevcuttur. Özet olarak; İBH'da, FT güvenli bir tedavi gibi görünmekle birlikte, etkinliği konusunda tam bir fikir sahibi olabilmek için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır (40).

İBS'te ise FT'nin olguların %36'sında tam iyileşme sağladığı %16'sında ise semptomları kontrol altına aldığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Kronik konstipasyonda, FT ile daha başarılı sonuçlar alınmıştır. 45 hastaya yapılan kolonoskopik FT ile olguların %89'unda defekasyon sıklığı düzelmiş ve karın ağrısı normale dönmüştür. Bu olguların 2 yıla varan takibinde %60 olguda laksatif kullanma ihtiyacı olmadan normal defekasyonun sağlandığı gözlenmiştir (41).

Fekal transplantasyon ile ilgili yapılan çalışmalar, başta İBH ve İBS olmak üzere, gastrointestinal sistem hastalıklarında ümit verici sonuçlar ortaya koymaktadır. Ancak FT'nin bu hastalıklarda klasik tedavi metodları arasına girebilmesi için daha çok sayıda randomize kontrollü çalışmalara ve metaanalizlere ihtiyaç olduğu hemen tüm otörlerin ortak görüşüdür.



Son yıllarda gastrointestinal sistem hastalıklarında FT'nin araştırıldığı çalışma sayısının hızla arttığı göz önünde bulundurulduğunda, yakın gelecekte bazı gastrointestinal hastalıklarda FT'nin klasik tedavi yöntemleri arasına gireceği düşünülebilir.

### Gastrointestinal Sistem Dışı Hastalıklarda FT

FT primer olarak gastrointestinal sistem hastalıklarının tedavisinde araştırılırken, gastrointestinal sistem hastalıklarına eşlik eden, başta nörolojik hastalıklar olmak üzere diğer bir takım hastalıklarda da iyileşme sağladığı araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Otizm, miyoklonik distoni, kronik yorgunluk sendromu gibi nörolojik hastalıklarda, çoğunluğu henüz vaka serileri bazında olsa da FT'nin semptomlarda belirgin iyileşme sağladığı göze çarpmaktadır.

Özellikle otizmlı çocuklarda, gastrointestinal sistemle ilişkili semptomların sıklığı ve bu olgularda intestinal mikrobiyotayı etkileyen geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının artmış olması bu hastalarda intestinal mikrobiyotanın hem gastrointestinal hem de nörolojik semptomlarla ilişkili olabileceğini akla getirmektedir. Bu nedenle nörolojik hastalıklarda en çok FT'nin araştırıldığı hastalıklardan biri otizmdir. Yapılan çalışmalarda FT'nin otizmlı çocuklarda hem nörolojik hem de gastrointestinal semptomlarda başarılı sonuçlar ortaya koyduğu rapor edilmiştir (42).

Diğer yandan, insanlarda yapılan çalışma sayısı az olmakla birlikte obezite ve metabolik sendromda da FT'nin etkili olabileceği yönünde veriler mevcuttur. Zayıf bireylerden obez olgulara FT yapıldığında, obez olgularda trigliserid düzeyinin azaldığını ve periferik ve hepatik insülin direncinde gözle görülür iyileşme olduğunu bildiren çalışma bunlar arasında en umut verici olanıdır (33).

Görüldüğü üzere FT, gastrointestinal sistem dışında diğer

birçok bilimdalı ile ilgilenen araştırmacıların dikkatini çekmekte ve son yıllarda sayısı hızla artan çalışmalarda başarılı sonuçlara imza atmaktadır. Bu sonuçlar FT'nin gastrointestinal sistem dışı hastalıklarda da hızla popülerite kazandığını ve önümüzdeki yıllarda adından daha sıkça bahsettireceğini göstermektedir.

### SONUÇ

İntestinal mikrobiyota, geçmişte araştırmacılar için kapalı bir kutu iken, son yıllarda mikrobiyota ile ilgili çalışmalar arttıkça birbirinden şaşırtıcı sonuçlar gün ışığına çıkmıştır. Bu sonuçlar ışığında gastrointestinal kanaldaki mikroorganizmaların önemi daha iyi anlaşılmıştır. İnflamatuvar bağırsak hastalığı ve irritabl bağırsak sendromundan başlayıp, fibromiyaljiye ve hatta otizme kadar uzanan geniş bir yelpazede işlevi olduğu bilinen bağırsak mikroorganizmaları ile ilgili araştırmalar artıkça günümüzde patogenezi hakkında net bilgi sahibi olmadığımız hastalıkların üzerindeki sis perdesinin ortadan kalkacağı düşünülmektedir.

İntestinal mikrobiyota ile ilgili çalışmaların artması ile günümüzde artık mikrobiyotanın bir tedavi modalitesi olarak kullanılabilmesi gündeme gelmiş ve FT yaklaşımı ortaya çıkmıştır. Gerçekten de FT, gastrointestinal ve gastrointestinal sistem dışı birçok hastalıkta başarılı sonuçlara imza atmış ve multidisipliner çalışmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. Günümüzde FT'nin uygulandığı birçok hastalıkta yapılan çalışma sayısı az olsa da, elde edilen veriler gelecek için ümit vericidir.

Yakın gelecekte; intestinal mikrobiyotanın hastalıklardaki öneminin daha iyi anlaşılması ile, FT'nin bir tedavi modalitesi olarak hak ettiği yeri alacağını ve gastroenteroloji ve gastroenteroloji dışı birçok endikasyonda kullanılacağını düşünmekteyiz.

### KAYNAKLAR

1. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:6578-83.
2. Duncan SH, Lopley GE, Holtrop G, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. Int J Obes 2008;32:1720-4.
3. Korena O, Spora A, Felin J, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci U S A 2011;108:4592-8.
4. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:13780-5.
5. Eckburg PB, Bik EM, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005;308:1635-8.
6. Ramirez-Farias C, Slezak K, Fuller Z, et al. Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of Bifidobacterium adolescentis and Faecalibacterium prausnitzii. Br J Nutr 2009;101:541-50.
7. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the Acquisition and structure of the initial microbiotaa cross multiple body Habitats in newborns. Proc Natl Acad Sci USA 2010;107:11971-5.

8. Penders J, Thijs C, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118:511-21.
9. Sjögren YM, Jenmalm MC, Böttcher MF, et al. Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clin Exp Allergy* 2009;39:518-26.
10. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol* 2009;9:123.
11. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108 (Suppl 1):4586-91.
12. Koren O, Spor A, Felin J, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(Suppl 1):4592-8.
13. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005;11:1131-40.
14. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, et al. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 2011;474:327-36.
15. Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26:5-11.
16. Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Current Microbiology* 2010;61:69-78.
17. Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006;55:205-11.
18. Saulnier DM, Riehle K, Mistretta TA, et al. Gastrointestinal microbiome signatures of pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011;141:1782-91.
19. Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, et al. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia* 2010;53:606-13.
20. Bjorksten B, Sepp E, Julge K, et al. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:516-20.
21. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002;35(Suppl 1):S6-S16.
22. Gophna U, Sommerfeld K, Gophna S, et al. Differences between tissue-associated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2006;44:4136-41.
23. Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006;55:205-11.
24. Macfarlane S, Furrer E, Cummings JH, Macfarlane GT. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. *Clin Infect Dis* 2004;38:1690-9.
25. Segain JP, Raingeard de la Blétière D, Bourreille A, et al. Butyrate inhibits inflammatory responses through NFκB inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut* 2000;47:397-403.
26. Gardiner KR, Halliday MI, Barclay GR, et al. Significance of systemic endotoxaemia in inflammatory bowel disease. *Gut* 1995;36:897-901.
27. Krogius-Kurikka L, Lyra A, Malinen E, et al. Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers. *BMC Gastroenterol* 2009;9:95.
28. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulincoating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:758-67.
29. Lee JY, Hwang DH. The modulation of inflammatory gene expression by lipids: mediation through toll-like receptors. *Mol Cells* 2006;21:174-85.
30. Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003;38:681-7.
31. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hit hypothesis. *Hepatology* 2010;52:1836-46.
32. Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol* 2012;590:447-58.
33. Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Curr Opin Gastroenterol* 2013;29:79-84.
34. Capoor MR, Nair D, Rajni Khanna G, et al. Microflora of bile aspirates in patients with acute cholecystitis with or without cholelithiasis: a tropical experience. *Braz J Infect Dis* 2008;12:222-5.
35. Manukyan GP, Ghazaryan KA, Ktsoyan ZA, et al. Elevated systemic antibodies towards commensal gut microbiota in autoinflammatory condition. *PLoS One* 2008;3:e3172,.
36. Iacono A, Raso GM, Canani RB, et al. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. *J Nutr Biochem* 2011;22:699-711.
37. Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation: techniques, applications, and issues. *Gastroenterol Clin North Am* 2012;41:781-803.
38. Kelly CP. Fecal microbiota transplantation - An old therapy comes of age. *N Engl J Med* 2013;368:474-5.
39. Landy J, Al-Hassi HO, McLaughlin SD, et al. Review article: faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:409-15.
40. Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012;107:1452-9.
41. Andrews P, Borody TJ, Shortis NP, Thompson S. Bacteriotherapy for chronic constipation – long term follow-up. *Gastroenterology* 1995;108:A563.
42. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010;16:444-53.