

Camu camu (*Myrciaria dubia*) ile tedavi, diyet kaynaklı obez farelerde bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek ve enerji harcamalarını artırarak şişmanlığı önler

Fernando F Anhê^{1,2}, Renato T Nachbar¹, Thibault V Varin², Jocelyn Trottier^{3,4}, Stéphanie Dudonné², Mélanie Le Barz^{1,2}, Perrine Feutry², Geneviève Pilon^{1,2}, Olivier Barbier^{3,4}, Yves Desjardins², Denis Roy², André Marette^{1,2}

Yazar bağlantıları

- 1) Tıp Fakültesi, Québec Kalp ve Akciğer Enstitüsünün Kardiyoloji Ekseni, Laval Üniversitesi, Québec, Kanada
- 2) Beslenme ve Fonksiyonel Gıdalar Enstitüsü, Laval Üniversitesi, Québec, Kanada
- 3) Moleküler Farmakoloji Laboratuvarı, Endokrinoloji-Nefroloji Ekseni, CHU-Québec Araştırma Merkezi, Québec, Kanada
- 4) Eczacılık Fakültesi, Laval Üniversitesi, Québec, Kanada

Yazışma:

André Marette, Québec Kalp ve Akciğer Enstitüsünün Kardiyoloji Ekseni, Laval Üniversitesi, Québec QC G1V 0A6, Kanada; andre.marette@criucpq.ulaval.ca

ÖZET:

Amaç Meyve tüketimi, daha iyi sağlık ve bağırsak mikrobiyotasında (GM) daha yüksek bakteri çeşitliliği ile yakından ilişkilidir. Camu camu (*Myrciaria dubia*) benzersiz bir fitokimyasal profili, güçlü antioksidan potansiyeli ve iddia edilen antienflamatuar potansiyeli olan bir Amazon meyvesidir.

Tasarı 16S rRNA gen bazlı taksonomik profillemeye ve fekal mikrobiyal transplantasyon (FMT) ile birlikte metabolik testleri kullanarak, Camu camu (CC) 'nin ham ekstraktının, yüksek yağ / yüksek sükröz (HFHS) ile beslenen farelerde obezite ve ilişkili immünometabolik bozukluklar üzerindeki etkisini değerlendirdik.

Sonuçlar HFHS ile beslenen farelerin CC ile tedavisi, kilo alımını, yağ birikimini ve körleşmiş metabolik iltihabı ve endotoksemiye önlemiştir. CC ile tedavi edilmiş farelerde glukoz toleransı ve insülin duyarlılığının artmış olduğu ve aynı zamanda hepatik steatoza karşı da tamamen korunduğu görülmüştür. Bu etkiler, artan enerji harcaması ve CC ile muamele edilmiş farelerin kahverengi adipoz dokusunda (BAT) ayrıştırma proteini 1 mRNA ekspresyonunun düzenlenmesi ile bağlantılıydı; bunlar, membran safra asidi (BA) reseptörü TGR5'in mRNA ekspresyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilendirildi. Üstelik, CC ile muamele edilmiş fareler, değişmiş plazma BA havuz büyüklüğü ve bileşimi ve GM'de sert değişiklikler (örn., *Akkermansia muciniphila*'nın çiçeği ve *Lactobacillus*'un kuvvetli bir azalması) gösterdi. CC ile muamele edilmiş farelerin GM'si ile yeniden oluşturulan germ içermeyen (GF) fareler, daha az ağırlık kazanmış ve HFHS kontrollerinin FM'si ile kolonize edilen GF farelerinden daha yüksek enerji harcaması sergilemiştir.

Varılan Sonuç Sonuçlarımız, CC'nin GM'e bağımlı olan ve BA havuzunun büyüklüğü ve bileşimindeki büyük değişikliklerle bağlantılı bir mekanizma olan BAT aktivasyonu ve artan enerji harcaması yoluyla visceral ve karaciğer yağ birikimini önlediğini göstermektedir.

Bu çalışmanın önemi

Bu konuda zaten bilinen ne?

- Meyve ve sebzelerin tüketimi daha iyi sağlık durumu ve düşük obezite prevalansı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.
- Polifenol bakımından zengin gıdaların diyet alımı, insanlardaki yüksek bakteri zenginliği ve çeşitliliği ile önemli ölçüde ilişkilidir ve hayvan çalışmaları, diyet polifenollerinin metabolik faydaları ve bağırsak mikrobiyotasındaki önemli değişiklikler arasında açık bir ilişki olduğunu göstermiştir.
- Beslenme fitokimyasallarının metabolik faydaları içindeki bağırsak mikrobiyotasının rolü açısından nedensellik tespit edilmekle birlikte, bu bileşiklerin vücut ağırlığı ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmalar daha fazla araştırma gerektirmektedir.

Yeni bulgular nelerdir?

- Camu camu (CC) diyetle ilgili obez farelerde beslenme ile ilgili eşsiz bir karışımın doyurucu bir dozunu sağlayarak, artan enerji harcaması yoluyla diyet kaynaklı obez farelerde obezite ve metabolik sendromu önlemiştir.
- CC, metabolik endotoksemiye önledi ve Lactobacillus spp'nin bolluğunu büyük ölçüde azaltarak ve Barnesiella spp, Turicibacter spp ve Akkermansia muciniphila'nın genişlemesini teşvik ederek bağırsak mikrobiyotasını yeniden şekillendirdi.
- CC dolaşımdaki safra asitleri ve safra asidi kompozisyonunun alt konjuge primer safra asitlerine ve daha yüksek konjuge olmayan sekonder safra asitlerine doğru değiştirilmiş safra asidi kompozisyonu seviyelerini düşürmüştür.
- Mikropsuz farelerin CC ile muamele edilmiş farelerin fekal mikrobiyotaları ile kolonizasyonu kısmen ve geçici olarak CC ile muamele edilmiş geleneksel farelerde görülen metabolik faydaları yeniden özetledi.

Bu çalışmanın önemi

Öngörülebilir gelecekte klinik uygulamaları nasıl etkileyebilir?

- Verilerimiz, CC ve diğer fitokimyasal yünden zengin meyvelerin, metabolik sendromun bazı zararlı özelliklerini hafifletmek için A. muciniphila ve bağırsak mikrobiyotasındaki potansiyel olarak yararlı bakterilerin genişlemesini tetiklemek için güvenli ve kolay uygulanabilir bir beslenme stratejisi olarak kullanımını teşvik eder.

Giriş

Şişmanlık ve fazla kilo prevalansı dünya çapında son derece yüksektir¹ ve endişe verici tahminler 2030'a kadar 1 milyardan fazla insanın obez olacağını göstermektedir. hastalıklar.³ Obezite ve komorbiditelere yol açan mekanizmaların deşifre edilmesi, yeni tedaviler ve önleyici stratejiler için araştırmalara rehberlik etmek için büyük önem taşımaktadır. Önceki

çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının konak metabolizmasını kontrol etmedeki rolünü göstermiştir.**4 5** Diyet, bağırsak mikrobiyal topluluk yapısını önemli derecede etkilerken, **6** metagenom çapında ilişki çalışması, meyve tüketiminin ve diğer bitki besin bakımından zengin gıdaların en güçlü faktörler arasında olduğunu ortaya koymuştur. İnsan fekal mikrobiyotasındaki değişiklikleri açıklama.**7 8** Buna göre, son zamanlarda yapılan hayvan çalışmaları polifenol bakımından zengin meyve özlerinin vücut ağırlığı kazancını azalttığını ve bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle birlikte insülin direncini azalttığını göstermiştir.**9 10** Bununla birlikte, bu bağırsak mikrobiyal değişikliklerinin metabolik faydalara ne ölçüde katkıda bulundukları belirsizliğini koruyor.

Camu camu (*Myrciaria dubia*), kendine özgü fitokimyasal profili**11** ve güçlü antioksidan ve antienflamatuar aktivitesi olduğu iddia edilen Amazon meyvesidir**11**. C vitamini, camu camu ve ellagik asit gibi flavonoidlerin konsantrasyonu bakımından bol miktarda bulunur. ellagitanninler ve proantosyanidinler de bu meyvede yükselir.**12 13** Camu camu, potansiyel olarak sağlıklı fitokimyasalların üretken bir topluluğudur, çünkü camu camuların ham özütlerinin uygulanmasının etkisini (buradaki bitkilerin toplamının iyi olduğunu taklit eden) beslenme kaynaklı obez farelerde obezite ve ilişkili immünometabolik bozukluklar üzerine beslenme ile ilgili dozlar. Camu camu'nun konak metabolizması üzerindeki etkilerine aracılık etmede bağırsak mikrobiyosunun rolünü iyice araştırmayı amaçladık.

Malzemeler ve yöntemler

Hayvanlar

8 haftalık (Jackson, ABD) yaştaki C57Bl / 6J erkek fareler, Beslenme Enstitüsü'nün hayvan tesisinde yer alan yiyecek ve su ad libitum ile kontrol edilen bir ortamda (12 saat gün ışığı döngüsü, 18:00 de ışıklar kapatıldı) ayrı ayrı muhafaza edildi ve işlevsel yemekler. Normal yemek diyetinde (Teklad 2018, Harlan) 2 haftalık iklimlendirme sonrasında, fareler rastgele olarak dört gruba (n = 12) ayrıldı ve yemek veya yüksek yağlı yüksek sakarozlu (HFHS) diyetle beslendiler (bkz. Çevrimiçi ek) tablo 1).Tedavi, HFHS diyetinin başlatılmasıyla birlikte başlamıştır ve günlük oral dozlarda (200 mg / kg) tekrar süspansiyon haline getirilmiş ham ekstre camu camu (Sunfood, San Diego, ABD), C vitamini (6.6 mg / kg) veya kullanılan araçtan oluşmuştur. özü ve C vitamini (yani, hayvan tesisinin içme suyu) 8 hafta boyunca tekrar süspanse edildi. Camu camu ve C vitamini ekstresi ile tedavi edilen gruplar, bakı metni boyunca sırasıyla CC ve VitC olarak adlandırılırken, araçla tedavi edilen gruplar Chow ve HFHS olarak tanımlanır. Camu camu özütünün fitokimyasal profili tablo 1 ve çevrimiçi ek tablo 2'de mevcuttur. Vücut ağırlığı artışı ve yiyecek alımı haftada iki kez değerlendirildi. 8. haftada, hayvanlar izofluran ile doymun hale getirilmiş odalarda anestezi uygulandı ve daha sonra kalp delinmesi ile sakrifiye edildi. 2 IU heparin içeren tüplere kan alındı ve plazmayı hücrelerden ayırmak için hemen santrifüjlendi. Kahverengi, deri altı ve visseral yağ pedleri gastrocnemius kası, karaciğer, bağırsaklar, pankreas ve kalp ile birlikte dikkatlice toplandı.

Table 1 Chemical characterisation of the camu camu extract		
	extract content (mg/100 g dry weight)	Daily intake* (mg/kg body weight)
Total polyphenols	6550±140	13.10
Anthocyanins	nd	
Proanthocyanidins	1854.97±6.53	3.7
Flavanols/flavonols	110.8±10	0.22
Quercetin	33.5±1.25	0.06
Quercetin-glucoside	5.6±0.51	0.01
Quercetin-galactoside	2.0±0.83	0.004
Quercetin-3-xyloside	3.5±0.96	0.007
Quercetin-3-arabinoside	0.7±0.39	0.001
Myricetin	74.3±1.96	0.14
Myricetin-glucoside/galactoside	8.4±1.63	0.01
Coumaroyl-glucosides	1.0±0.26	0.002
Phenolic acids	100.0±0.001	0.20
4-Hydroxybenzoic acid	1.1±0.31	0.002
p-Coumaric acid	4.6±0.30	0.009
Ferulic acid	0.3±0.03	0.0006
Protocatechuic acid	0.4±0.12	0.0008
Gentisic acid	0.2±0.12	0.0004
Ellagitannins	450.0±110	0.90
Ellagic acid	44.0±0.001	0.08
Casuarictin	7.0±0.14	0.01
Ellagitannin B	117.1±6.70	0.23
Ellagic acid	44.0±0.001	0.08
Gallic acid	26.1±0.76	0.05
Sugar		
Glucose	1110±0.08	2.22
Fructose	1790±0.11	3.58
Polysaccharides	7280±5.04	14.56
Fibres	34290±685.8	68.58
Insoluble	8092.44±161.8	16.18
Fibres	3669.03±73.3	7.33
Vitamin C	3330±90.8	6.66

Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur.

* Günlük alım, farelere 8 hafta boyunca sözlü olarak verilen 200 mg camu camu özü / kg vücut ağırlığı dozu esas alınarak hesaplandı.

nd, algılanmadı.

Metabolik kafesler

5. haftada, fareler ayrı ayrı metabolik kafeslere yerleştirildi (Kapsamlı Laboratuvar Hayvan İzleme Sistemi, CLAMS, Columbus Instruments, Columbus, Ohio, ABD). Tüm metabolik çalışmalar için oda sıcaklığı, fareleri termoneötrallikde tutmak için 28 ° C'de tutuldu (15, ve 12 saatlik bir aydınlık / karanlık döngüsü). Metabolik vücut büyüklüğü (vücut ağırlığı 0.75) hesaplanırken Kleiber'in spesifik özel kitle katsayısı (0.75) kullanılarak metabolik hız ve vücut kütlesi arasındaki ilişki normalleştirilmiştir.

Mikropsuz fareler ve fekal mikrobiyota nakli

İlave bir kohortta, araçla muamele edilmiş ve CC ile muamele edilmiş geleneksel farelerin dışkı topakları, 6. haftada toplandı ve fosfat tamponlu salin (PBS) (110 mg dışkı / 350 uL PBS) içerisinde yeniden süspansiyon haline getirilmesi için anaerobik haznelere aktarıldı. Taconic, ABD'den 8 haftalık yaşta on dört adet mikropsuz C57Bl / 6N erkek fare alındı ve varış günü steril kaplar mikropsuz bir laminar akış kaputu altında açıldı ve fareler taze hazırlanmış dışkı süspansiyonları ile tomurcuklandı (350 uL). Araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen farelerin fekal mikrobiyotasıyla yeniden oluşturulan mikropsuz farelere HFHS alıcıları (n = 7), buna karşılık CC muameleli HFHS ile beslenen farelerin dışkı çamuru ile yeniden oluşturulmuş olanlara CC alıcıları denir (n = 7) yazının tamamında. Alıcı fareler başlangıçta 4 gün boyunca (Columbus Instruments) metabolik kafeslerde tutuldu ve daha sonra 10 gün boyunca havalandırılmış steril kafeslere aktarıldı ve çalışma boyunca düşük yağlı bir diyet (Araştırma diyetleri, D12450H) ile beslendi.

Kapsül içi sıcaklık, glukoz homeostazı, plazma safra asitleri (BA), protein ve gen ekspresyonu ve bağırsak mikrobiyal profilini değerlendirmek için kullanılan yöntemler çevrimiçi tamamlayıcı materyalde mevcuttur. Primer dizileri çevrimiçi ek tablo 3'te mevcuttur.

İstatistiksel analiz

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Bonferroni post hoc testi ile (parametrik veri setleri için) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) veya Dunn çoklu karşılaştırma testi ile (parametrik olmayan veri setleri için) Kruskal-Wallis testi (GraphPad) Prism, usa). İki yönlü tekrarlanan ölçümler Zaman değişkeni olarak kabul edildiğinde Bonferroni son testiyle ANOVA (Sigmaplot, ABD) kullanıldı. Tüm sonuçlar $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

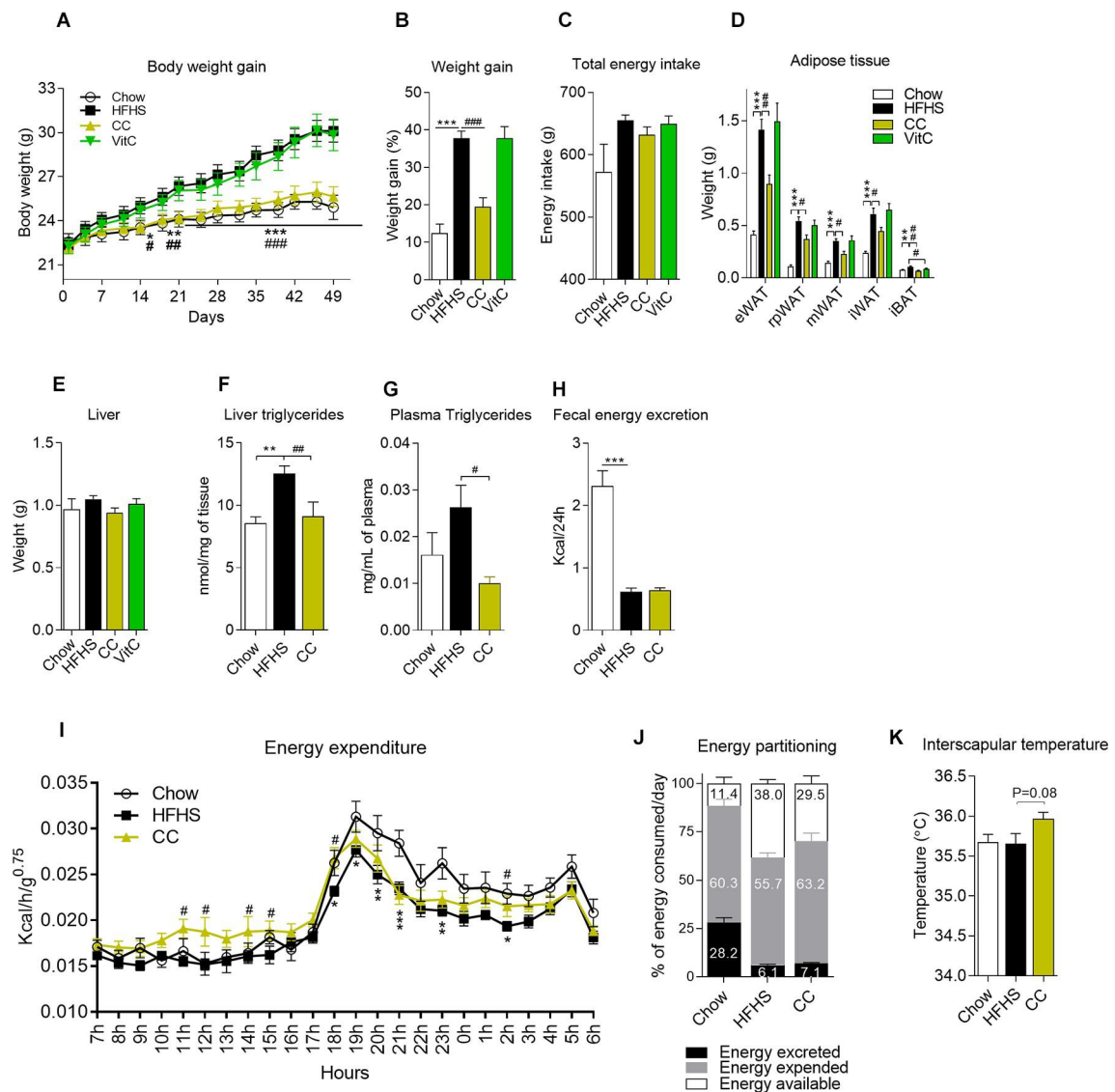
İki farklı biyolojik durum arasında diferansiyel olarak bol ve biyolojik olarak ilgili taksonomik biyobelirteçlerin istatistiksel önemi, doğrusal bir ayırıcı analiz etki büyüklüğü (LEfSe) kullanılarak ölçülmüştür.

Sonuçlar

CC, ancak C vitamini değil, diyetle indüklenen obez farelerde obezite ve karaciğer steatozunu önler

Günlük oral CC uygulaması, 14. günden itibaren diyetle indüklenen kilo alımını önledi (şekil 1A, B) ve bu bulgular enerji alımındaki değişikliklerle ilişkili değildi (şekil 1C). CC, visceral (yani, epididim, retroperitoneal ve mezenterik), deri altı (yani, kasık içi) ve yıldızlararası kahverengi yağ (şekil 1D) dahil olmak üzere tüm yağ depolarında yağ birikmesini önledi. Bağırsak uzunluğu ve gastrocnemius, pankreas, kalp ve caecum içeriğinin ağırlığı CC uygulamasından etkilenmedi (bkz. Çevrimiçi ek şekiller 1a-f). C vitamini diyetle bağlı obeziteyi engellemedi (şekil 1A – D), ekstrakttaki diğer bileşenlerin gözlemlenen anti-obezite etkilerinden sorumlu olduğunu öne sürdü. Karaciğer ağırlığı, CC ile tedavi edilen farelerde (Şekil 1E) hafifçe, ancak anlamlı bir şekilde azalmadı (Şekil 1E); diyetle indüklenen hepatik steatoz ve dislipidemi, hem karaciğerde hem de CC ile tedavi edilen dolaşımdaki düşük trigliserit birikimi ile gösterildiği gibi CC tedavisi ile tamamen önledi fareler HFHS kontrol farelerine karşı (şekil 1F, G). CC ve

HFHS fareleri arasında günlük dışkı enerjisi çıktısında bir farklılık bulamadık, bu durum CC'nin gıda sindirimini veya bağırsak emilimini değiştirmediğini düşündürdü (Şekil 1H). CC, enerji harcamalarını arttırdı ve artırılmış fiziksel aktivite ile ilgisi yoktu (Şekil 1I ve çevrimiçi ek rakamlar 1g – I), bu da depolama için daha az enerji elde edilmesine neden oldu (şekil 1J). Artan oksijen tüketimine paralel olarak, CC ile muamele edilmiş fareler, araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen farelere kıyasla daha yüksek damar içi sıcaklığa karşı bir eğilim ($p = 0.08$) göstermiştir (Şekil 1K, HFHS $35.66^{\circ}\text{C} \pm 0.09$; CC $35.97^{\circ}\text{C} \pm 0.08$). Birlikte alındığında, bu sonuçlar CC'nin enerji harcamasını ve termojenezi artırarak diyetle bağlı kilo alımını ve yağlanmayı önlediğini göstermektedir.



Şekil 1

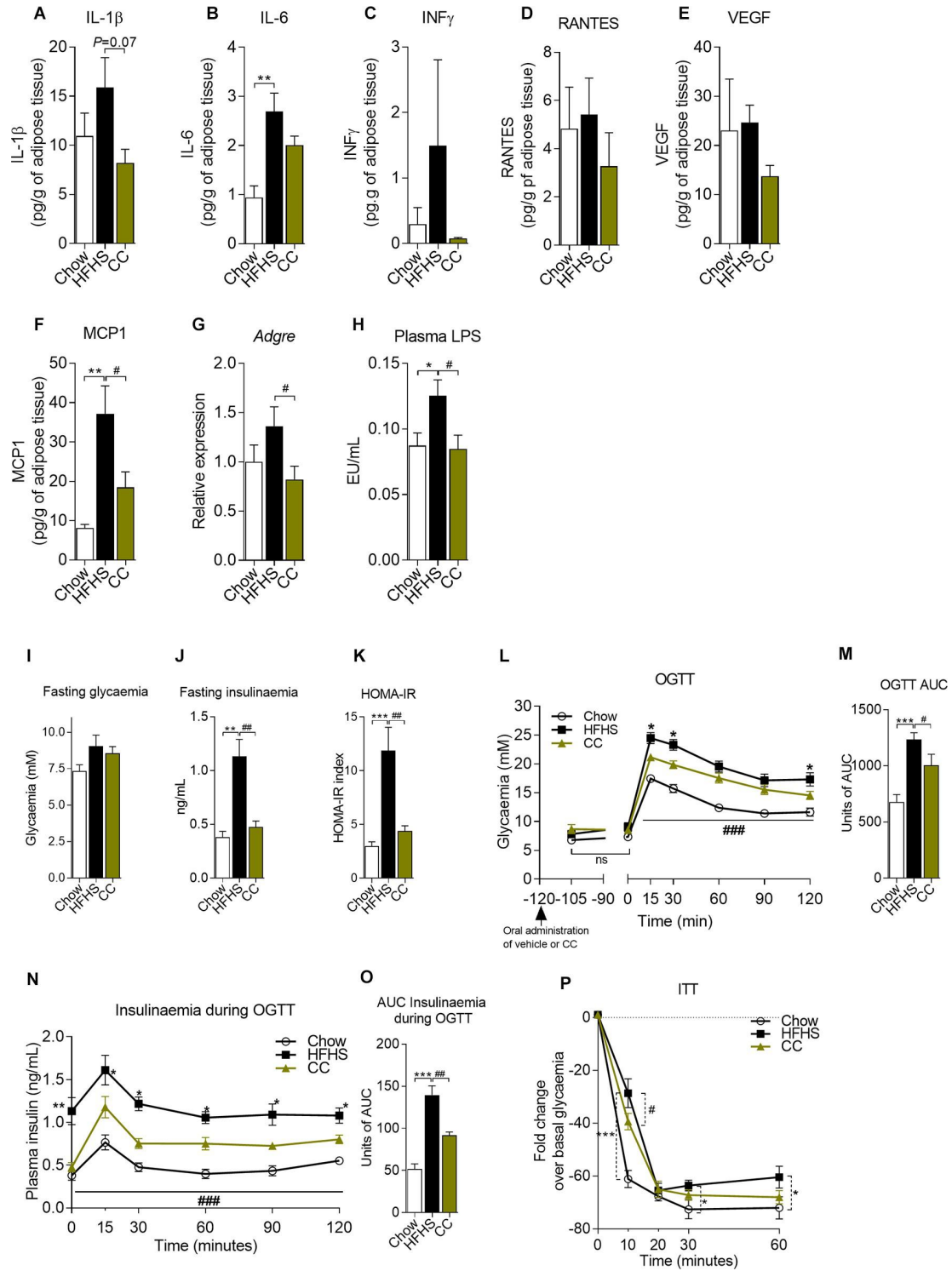
Camu camu (CC) uygulaması, ancak C vitamini (VitC) değil, diyet kaynaklı obeziteyi önler. Fareler standart bir yemek yemi diyeti (Chow, $n = 12$) veya yüksek yağ / yüksek sakaroz (HFHS, $n = 12$) diyeti ile beslendi ve günlük bir CC ($n = 12$) veya VitC ($n =$) ekstraktının günlük dozlarıyla tedavi edildi. 12) 8 hafta boyunca. (A, B) Vücut ağırlığı artışı; (C) kümülatif enerji alımı. (D) Epididimal (eWAT), retroperitoneal (rpWAT), mezenterik (mWAT) ve inguinal (iWAT) beyaz adipoz dokular (WAT), inkapkapüler kahverengi adipoz dokusu (iBAT) ile birlikte toplandı ve nekropiler sırasında tartıldı. (E) Karaciğer ağırlığı; (F) hepatik trigliserit içeriği; (G) dolaşımdaki

trigliseritler (6 saatlik aç fareler). 5. haftada, fareler geçici olarak metabolik kafeslere yerleştirildi ve (H) fekal enerji çıktısı ve (I) enerji harcaması değerlendirildi. Fareler, 3 günlük bir süre boyunca izlendi (1 günlük iklimlendirme, ardından 2 günlük ölçümler). Metabolik hız ile vücut kütlesi arasındaki ilişki, metabolik vücut büyüklüğü kullanılarak normalleştirilmiştir (yani vücut kütlesi 0.75). (J) Enerji bölümlenmesi. (K) Yıldızlararası sıcaklık. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. (A, I) iki yönlü tekrarlanan ölçümlerde Bonferroni post hoc testi ile varyans analizi (ANOVA). (B – H, K) Bonferroni post hoc testi ile tek yönlü ANOVA. * Chow vs HFHS için $P < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$; HFHS'ye karşı CC için # $p < 0.05$, $p < 0.01$ ve $p < 0.001$.

CC, adipoz doku iltihabını köreltir, metabolik endotoksemiye hafifletir ve diyetle indüklenen obez farelerde glukoz homeostazını geliştirir

CC tedavisi, yağ dokusunda metabolik enflamasyonu önleyerek interleukin-1 β (IL-1 β) 'e indirgenme yönünde güçlü bir eğilim ($p = 0.07$) yol açmıştır. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), IL-6, interferon- γ (INF- γ) ve aktivasyona bağlı normal T hücresi seviyeleri, CC tedavisi ile eksprese edilmiş ve salgılanmış (RANTES) seviyelerde değişmezken, düşük monosit seviyeleri bulduk. CC ile muamele edilmiş, araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen farelerde kemoatraktan protein-1 (MCP-1) (şekil 2A-F). Adipoz dokusunda makrofaj infiltrasyonunun önemli bir orkestratörü olan azalmış MCP-1 ile paralel olarak, Adgre'nin düşük mRNA ifadesi (F4 / 80 için kodlar) ve epididimal adipoz dokusunda (eWAT'de düşük taç benzeri yapı (CLS) yoğunluğu bulduk CC farelerinin) (şekil 2G ve çevrimiçi ek şekil 2a-c, f). Geliştirilmiş yağ dokusu iltihabı ile uyumlu olan CC fareleri, adiposit büyüklüğünün azaldığını gösterdi (bakınız çevrimiçi ek şekiller 2a-e). CC tedavisi, düşük dolaşımdaki LPS seviyeleriyle gösterildiği gibi metabolik endotoksemiye de önledi (şekil 2H).

Açlık glisemisi, CC ile tedavi edilen ve HFHS kontrol fareleri arasında farklı değildi (Şekil 2I), CC uygulaması, açlık hiperinsülinemisini (şekil 2J) önledi ve düşük HOMA-IR (Şekil 2K) tarafından önerildiği gibi açlık insülin direncini arttırdı. Glikoz sonrası zorluk, CC ile güçlendirilmiş glikoz klirensi (şekil 2L, M) ve sınırlı diyetle indüklenen hiperinsülinemi (şekil 2N, O), HFHS kontrol farelerine karşı CC farelerinde insülin enjeksiyonundan 10 dakika sonra (şekil 2P) insülin duyarlılığı geliştirildi. Bu sonuçlar, CC'nin HFHS'nin indüklediği obezite ve visceral yağ birikimi ve enflamasyonu üzerindeki önleyici etkisinin, glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığının artmasına neden olduğunu göstermektedir.



şekil 2

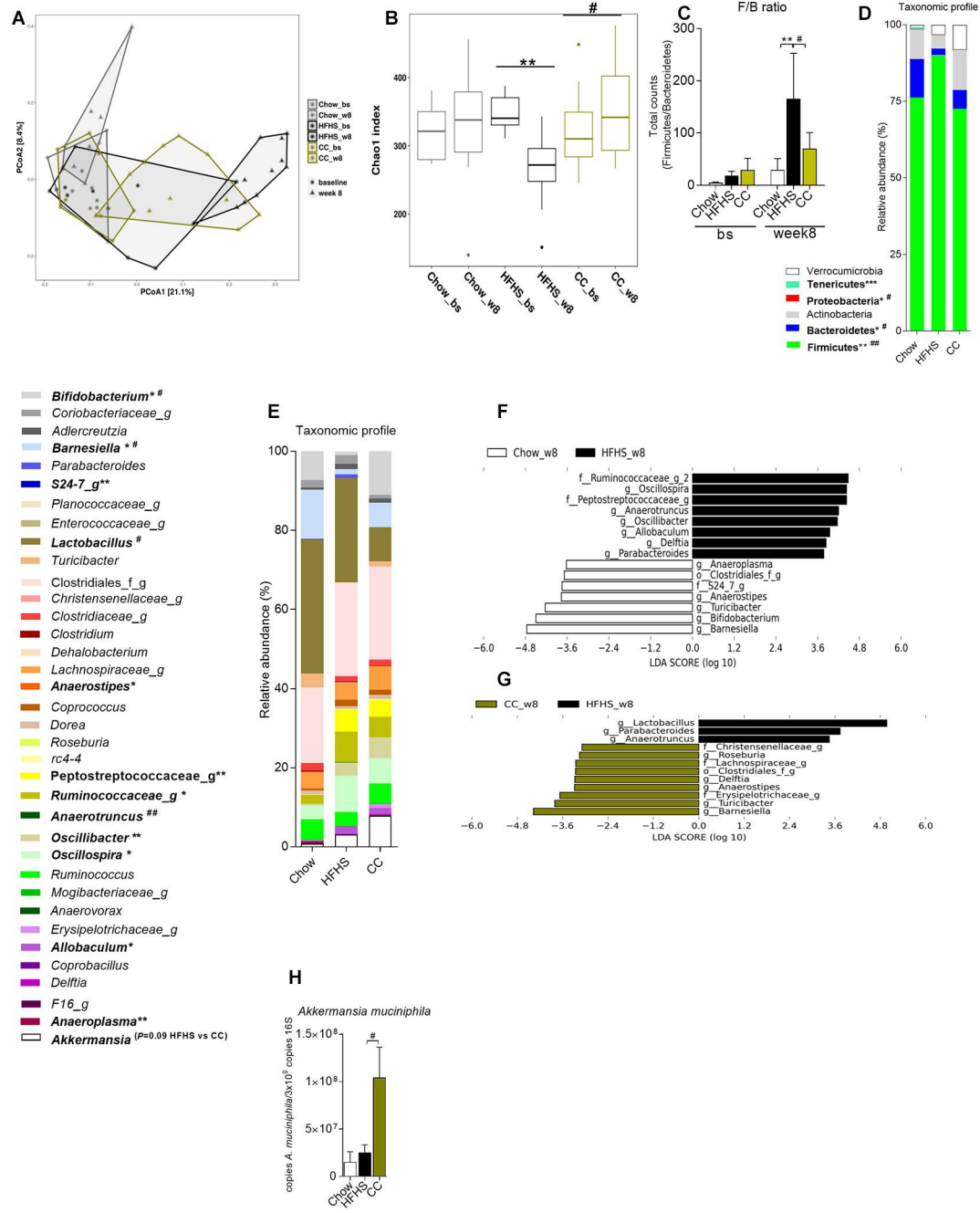
Camu camu (CC), yağ dokusu iltihabını köreltir, metabolik endotoksemiye hafifletir ve diyetle indüklenen obez farelerde glukoz homeostazını geliştirir. (A) interlekin-1 β (IL- miktarını belirlemek için Chow (n = 12), yüksek yağ / yüksek sakaroz (HFHS) (n = 12) ve CC (n = 12) epididimal yağ pedlerinden (eWAT) protein lizatları kullanıldı 1 β), (B) interlekin-6 (IL-6), (C) interferon--(INF- γ), (D) aktivasyonunda düzenlenen ve normal T hücresi aktivasyonunda düzenlenen (RANTES), (E) vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve (F) monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1). (G) Adgre'nin qPCR analizi (F4 / 80 için kodlar) eWAT'deki mRNA ifadesi. (H) Dolaşan lipopolisakaritler (LPS) (6 saatlik aç karneler). 6. haftada, fareler (n = 12) gece boyunca aç bırakıldı (12

saat) ve oral glukoz tolerans testlerine (OGTT) gönderildi. Testten 2 saat önce CC oral yolla verildi ve CC'de mevcut şekerler ile ilişkili glisemideki olası değişiklikleri izlemek için CC uygulamasından 15 dakika sonra glisemiye değerlendirildi. (I) Açlık glisemisi; (J) açlık insülinemisi; (K) insülin direnci için homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR); (L, M) OGTT. (N, O) OGTT sırasında kan alındı ve glukoz tehdidinden sonra insülinemiyi değerlendirmek için kullanıldı. 7. haftada, fareler 6 saat boyunca aç bırakıldı ve intraperitoneal insülin enjeksiyonlarından (0.65 IU / kg) sonra (P) insülin tolerans testleri (ITT) yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. (L, N ve P) iki yönlü tekrarlanan ölçümler Bonferroni post hoc testi ile varyans analizini (ANOVA) ölçer. (A – K, M ve O) Bonferroni post hoc testi ile tek yönlü ANOVA. * Chow vs HFHS için $P < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$; HFHS'ye karşı CC için # $p < 0.05$, $p < 0.01$ ve $p < 0.001$. AUC, eğrinin altındaki alan.

CC uygulaması, şişmanlığa bağlı dysbiosis'i önler

Dışkı örnekleri, çalışma sonunda (yani, 8. haftada) ve çalışma başlangıcında mikrobiyal profilin tek biçimliliğini doğrulamak için bir Chow diyeti üzerinde iklimlendirme periyodunun sonunda toplandı. Temel koordinat analizi, tüm numunelerin başlangıçta benzer şekilde kümelenmesine rağmen (bütün fareler standart bir yemek yemi yediğinde), 8 haftalık HFHS beslemesini, gut mikrobiyal profilini büyük ölçüde değiştirdi (şekil 3A). Bununla birlikte, CC ile muamele edilmiş fareler, kısmen, CCT bağırsak mikrobiyal profilinde (Şekil 3A) önemli değişikliklere işaret eden, araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen fareler örneklerinden kısmen ayrılmıştır. CC tedavisi, mikrobiyal zenginlikteki diyetin neden olduğu düşüşü (şekil 3B) ve iki obezite odaklı dysbiosis belirtisi olan (Şekil 3C, D) artışı engelledi (Şekil 3C, D). Bifidobacterium ve Barnesiella'da azalma (Şekil 3E ve çevrimiçi tamamlayıcı şekiller 3I, n) ve daha sonra HFHS'ye kıyasla CCM mikrobiyotasındaki tespit edilen Firmicutes'daki azalmanın çoğunu açıklayan Lactobacillus'un göreceli bolluğunu azaltmıştır (Şekil 3E ve çevrimiçi tamamlayıcı şekil 3a).

LEfSe yaklaşımı, Barnesiella spp ve Turicibacter spp ile birlikte, Lactobacillus spp'ye HFHS kontrol farelerinden fekal bakteri toplulukları ayıran temel özellikleri olarak operasyonel taksonomik birimlerde (OTU) önemli bir düşüş gösterdi (Şekil 3G ve çevrimiçi ek şekil 3a , k, l). Barnesiella ve Turicibacter'in bolluğu, araçla muamele edilmiş HFHS farelere kıyasla (Şekil 3F) kıyasla Chow farelerinde de fark edildi. CC farelerinde Akkermansia muciniphila'nın genişlemesine yönelik bir eğilim bulduğumuzdan (şekil 3E ve çevrimiçi tamamlayıcı şekil 3m), bu bakteriyi qPCR ile ölçtük ve CC farelerinde bolluğunda büyük bir artış tespit ettik (şekil 3H). Her ne kadar OTU'lar Delftia, Roseburia, Anaerostipes, Anaerotruncus ve Parabacteroides cinslerine ve sınıflandırılmamış cinslere tahsis edilmiş olmasına rağmen, Christensenellaceae ve Erysipelotrichaceae familyalarında sınıflandırılmamış cinsler LEfSe tarafından CC ve HFHS kontrol fareleri arasında belirgin bir şekilde ayırıcı taksonlar olarak tanımlanmış olsalar da, (Şekil 3), düşük sayıdaki önemsiz olarak, (şekil 3E). Bu nedenle, özellikle Barnesiella, Turicibacter, Bifidobacterium, A. muciniphila ve Lactobacillus gibi CC ile ilgili ana etkilere odaklanmaya karar verdik.



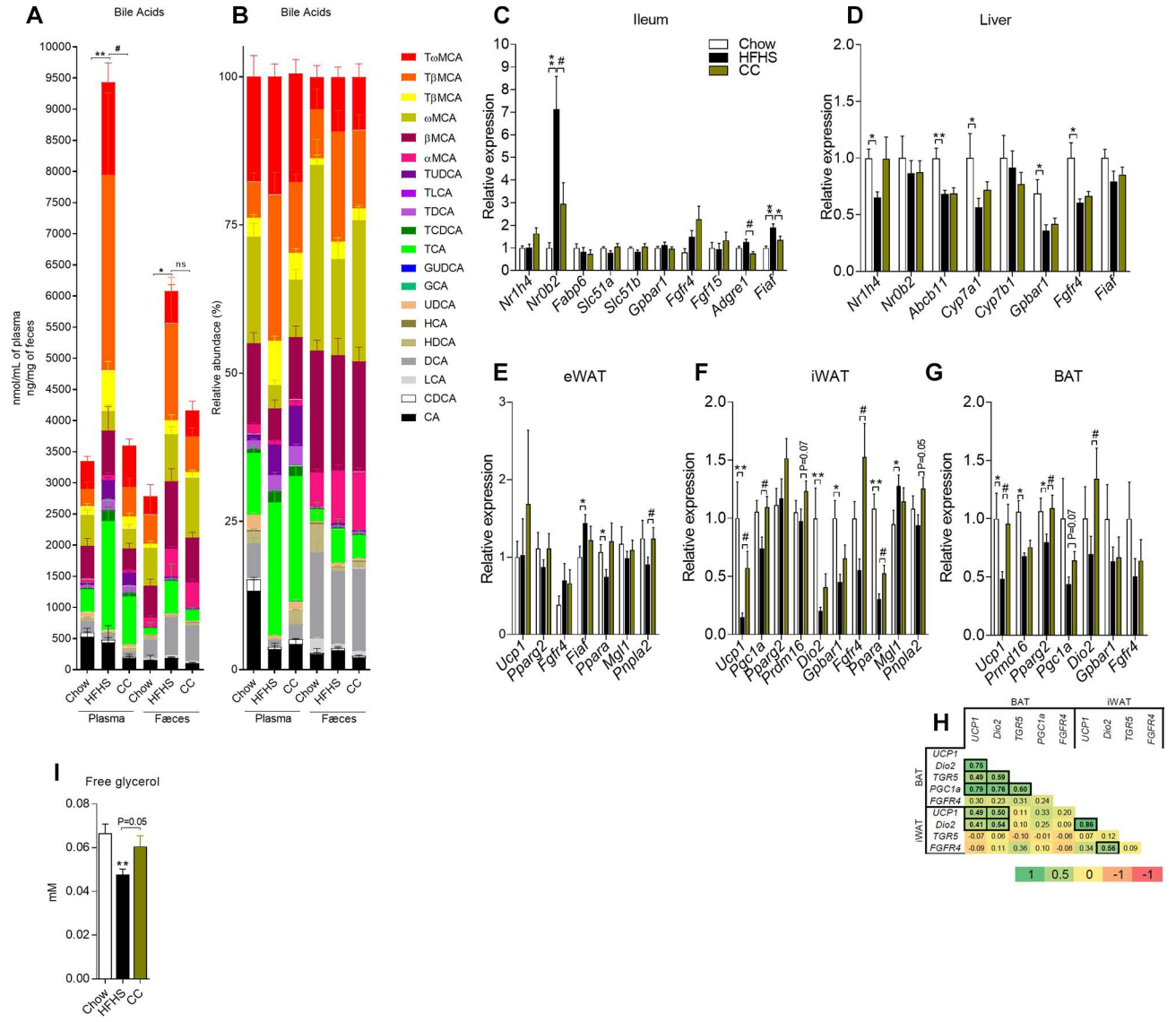
şekil 3

Camu camu (CC), yüksek yağ / yüksek sakaroz (HFHS) ile beslenen farelerde şişmanlığa bağlı bağırsak mikrobiyotada dysbiosis'i önler. Chow beslemeli (Chow, n = 9), HFHS (n = 11) ve HFHS ile beslenen CC ile muamele edilmiş (CC, n = 11) farelerin dışkı örnekleri, 8. haftada toplandı. HFHS diyet veya CC tedavisine başlamadan önce, bir Chow diyeti üzerinde iklimlendirmenin (baz (bs)). Genomik DNA dışkıdan ekstrakte edildi ve ardından 16S rRNA bazlı bağırsak mikrobiyal profillemesi yapıldı. (A) Ağırlıksız UniFrac mesafe matrisinde ana koordinat analizi (PCoA), (B) Chao1 endeksi (OTU seviyesinde), (C) Bacteroidetes Firmicutes (F / B) oranı (toplam Firmicute / toplam Bacteroidet sayısı). Taksonun (D) filum ve (E) en düşük taksonomik seviyede göreceli bolluğu. Taksonları (F) Chow - HFHS ve (G) CC - HFHS bağırsak mikrobiyotası arasında daha kuvvetli bir şekilde ayırt edebilecek en düşük taksonomik seviyedeki taksonları araştırmak için doğrusal ayırıcı analiz (LDA)

etki büyüklüğü (LEfSe) hesaplandı. (H) 3 x 109 kopya 16S (toplam bakteri) ile normalize edilmiş fekal Akkermansia muciniphila'nın qPCR miktarının belirlenmesi. Taksonun sonunda "f" ve "g", sırasıyla sınıflandırılmamış ailesi ve cinsi belirtir. (B – E) Dunn'ın çoklu karşılaştırma testiyle Kruskal-Wallis testi. (H) Bonferroni post hoc testi ile tek yönlü varyans analizi. * P <0.05, ** p <0.01 ve *** p <0.001 Chow - HFHS; HFHS ve CC için # p <0.05, p <0.01 ve p <0.001.

CC uygulaması, plazma safra asidi havuzunu değiştirir ve kahverengi yağ aktivasyonu ve beyaz adipoz dokusunun esmerleşmesi markörlerinin mRNA ekspresyonunu yükseltir.

BA'nın enerji homeostazı ve kahverengi adipoz doku aktivitesini düzenlediği gösterilmiş olduğundan, 21-23 BA havuzundaki değişikliklerin CC ile tedavi edilmiş farelerde görülen etkilerle bağlantılı olup olmayacağını değerlendirmeye çalıştık. Dolaşımdaki tauro-a-murokolik asit (TαMCA) ve tauro-mu-murokolik asit (TβMCA) göreceli bolluğu CC farelerinde daha düşükken, mu-murokolik asit ve mu-murokolik asit (ωMCA) oranı daha yüksekti. Bu fareler (Şekil 4B ve çevrimiçi ek tablo 5). Ayrıca, chenodeoksikolik asit (CDCA), deoksikolik asit (DCA), hyodeoksikolik asit ve ursodeoksikolik asit (UDCA) göreceli bolluğu, HFHS kontrol farelerine karşı CC farelerinin plazmasında daha yüksek olduğunu göstermiştir (Şekil 4B ve çevrimiçi ek tablo 5). paralel azalmış dolaşımdaki BA (şekil 4A ve çevrimiçi ek tablo 5) ve CC farelerinin plazmasındaki ikincil ve konjuge olmayan BA oranının artması (şekil 4B, çevrimiçi ek tablo 5 ve çevrimiçi ek şekil 4a-d). Dışkı BA konsantrasyonu, araçla tedavi edilen ve CC ile tedavi edilen fareler arasında benzerdi (şekil 4A, çevrimiçi tamamlayıcı şekiller 4e-h ve çevrimiçi tamamlayıcı tablolar 4 ve 5), CC farelerinde değiştirilmiş dolaşımdaki BA'nın BA sentezindeki farklılıklara kıyasla daha fazla olduğunu ortaya koydu boşaltım / yeniden alım. BA havuzunun boyutunun küçültülmesiyle uyumlu olarak, Nr0b2'nin (Shp1 için kodlar) ileal mRNA ifadesi CC farelerinde aşağı doğru düzenlenmiştir; bununla birlikte, bu, BA taşıyıcıları organik çözünen taşıyıcı-a (Osta, Slc51a) ve Ost® (faresioid X reseptörü (FXR) kontrolü altındaki farnesoid X reseptörü (FXR) kontrolü altındaki diğer genlerin mRNA ekspresyonunu etkilemek için yeterli değildi. Slc51b), CC farelerinin ileumunda (şekil 4C). Bu bulgular, CC farelerinin karaciğerindeki Cyp7a1'in mRNA ekspresyonunda HFHS ile beslenen kontrol farelerine kıyasla (Şekil 4D) değişikliklerle ilgili değildi. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, CC ile tedavi edilmiş farelerde plazma BA havuz büyüklüğündeki ve bileşimdeki sert değişiklikleri vurgulamaktadır.



Şekil 4

Camu camu (CC) uygulaması safra asidi havuzu boyutunu ve kompozisyonunu değiştirir ve kahverengi adipoz doku aktivasyonu, lipoliz ve lipogeneze yer alan genlerin mRNA ekspresyonunu yükseltir. (A, B) Plazma ve fekal safra asitleri. (C) ileum, (D) karaciğer, (E) epididimal adipoz doku (eWAT), (F) inguinal adipoz doku (iWAT) ve (G) kahverengi adipoz dokudan (BAT) ekstrakte edilen Messenger RNA, RT-PCR ile ölçülmüştür. Bağlı ekspresyon, referans grubu olarak aktin ve referans geni olarak aktin olarak mCt metodu kullanılarak hesaplandı. (H) BAT ve iWAT mRNA ekspresyon profilleri arasındaki korelasyon matrisi (koyu değerler istatistiksel olarak anlamlı korelasyonları gösterir; $p = 0.05$, $0.404 > r > 0.404$; $p = 0.01$, $0.515 > r > 0.515$; $p = 0.001$ ise $0.628 > r > 0.628$). (I) Serbest gliserol. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Bonferroni post hoc testi ile tek yönlü varyans analizi. * Chow vs HFHS için $P < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$; HFHS'ye karşı CC için # $p < 0.05$, p < 0.01 ve p < 0.001 .

Bulgularımız, CC ile muamele edilmiş farelerin hem kahverengi (BAT) hem de inguinal (iWAT) adipoz dokularındaki ayrıştırma proteini 1 (Ucp1) ve deiodinaz 2'nin (Dio2) mRNA seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu ortaya koydu (Şekil 4F, G). Ayrıca, iWAT beğingini destekleyen CC fareleri, daha yüksek peroksizom proliferatör-aktif edilmiş reseptör γ -2 (Pparg2) mRNA ekspresyonu, 16 (Prdm16) gen ekspresyonu içeren PR alanını artırma ve

araçla karşılaştırıldığında iWAT'de artan UCP1 protein ekspresyonuna yönelik bir eğilim gösterdiler. ile muamele edilmiş HFHS ile beslenen fareler (şekil 4F ve çevrimiçi ek şekil 5a). Yüksek BAT aktivitesi ile uyumlu olarak, Pparg2'nin mRNA ifadesi, CC farelerinin BAT'ında artmış, PPAR koaktivatör 1a (Pgc1a) gen ifadesi, CC ile muamele edilmiş ve araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen farelerin BAT'ında daha yüksek eğilim göstermiştir (şekil 4G). Fgfr4'ün mRNA ifadesi, CC farelerinin kasık yağında (şekil 4F) yukarı doğru düzenlenmiştir, ancak bu farelerin eWAT veya BAT'ında (şekil 4E, G). Hem iWAT hem de BAT'ta Ucp1 ve Dio2 mRNA ekspresyonu ile BAT'de TGR5 (Gpbar1) mRNA ekspresyonu ile BAT aktivasyonunda yer alan tüm anahtar genler (Şekil 4H) arasındaki mRNA ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon bulduk. Analizimiz ayrıca, Fgfr4'ün mRNA ifadesinin iWAT'deki Dio2'nin mRNA ifadesi ile güçlü bir şekilde korele olduğunu ($r = 0.86$) (Şekil 4H) ortaya koymuştur. EWAT'ta Ucp1 ve Fgfr4 mRNA ifadesinde önemli değişiklikler tespit etmedik (şekil 4E). Özet olarak, bu veriler deri altı beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesiyle birleşmiş kahverengi yağ aktivasyonunu desteklemektedir.

Safr tuzu hidrolazlarını (BSH) ifade ettiğı bilinen *Lactobacillus* spp, dışkıdaki birkaç konjuge olmayan BA ile güçlü bir şekilde korelasyon gösterdi. *Akkermansia*, ω MCA ile negatif korelasyon gösterdi ve dolaşımdaki DCA ve UDCA'nın taurin-konjuge formlarının yanı sıra sekonder BA LCA ile pozitif korelasyon gösterdi (Tablo 2). Sınıflandırılmamış *Erysipelotrichaceae* ve *Lachnospiraceae* ile *Barnesiella* gibi diğer bakteri grupları da plazmadaki sekonder BA'ların hem serbest hem de taurine konjuge formları ile güçlü bir şekilde korele idi (Tablo 2). Bu sonuçlar, CC farelerinin bağırsak mikrobiyotasındaki anahtar-filotiplerin sekonder BA'ların sentezine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Daha sonra lipolitik / lipojenik programdaki değişikliklerin, CC farelerinde bulunan yağ kütlesi kazancına da katkıda bulunup bulunmadığını değerlendirdik. Plazma içermeyen gliserole (şekil 4I) ve CC farelerinin hem eWAT hem de iWAT'lerinde (şekil 4F, G) artan Ppara gen ifadesine ek olarak, hem eWAT hem de eWAT'de adipoz trigliserit lipazın (Pnpla2 tarafından kodlanan) artan mRNA ifadesi bulduk iWAT (şekil 3E, F). Ayrıca, lipoprotein lipaz (LPL) inhibitörü açlık kaynaklı adipoz faktörünün (Fiaf) ileal gen ekspresyonu, CC farelerinde (şekil 3C) azalırken, monoasilgliserol lipazın (Mgl1) gen ekspresyonu CC'den etkilenmedi (Şekil 3E). , F). Bu bulgular, daha yüksek trigliserit klirensi ile beslenen lipoliz ve yağ asidi oksidasyonunun arttığına işaret ederken, Mgl1 muhtemelen transkripsiyon seviyesinde zayıf şekilde düzenlenir. EWAT'de 36 (CD36) ve yağ asidi sentazının (FAS) farklılaşma kümesinde protein ekspresyonunun azaldığını bulduk (bkz. Çevrimiçi tamamlayıcı şekiller 5h, j) ve CCW'nin iWAT'ında düşük yağ asidi bağlayıcı protein 4 (FABP4) ve FAS işlenmiş fareler (bkz. çevrimiçi ek şekiller 5b, f). İWAT'de CD36, PPAR γ (-2 ve toplam) ve asetil-CoA karboksilaz (ACC) protein ekspresyonu CC işleminden etkilenmedi (bkz. Çevrimiçi ek rakamlar c - e), PPAR α (-2 ve toplam protein seviyeleri) , EWAT'deki FABP4 ve ACC, CC ile tedavi edilen ve araçla tedavi edilen HFHS ile beslenen fareler arasında farklı değildi (bakınız çevrimiçi ek şekiller g, i, k). Bu veriler, daha yüksek enerji harcamasına ek olarak, CC farelerinin hem visceral hem de deri altı yağ depolarında artan lipoliz / yağ asidi oksidasyonunu ve azalmış lipid sentezini gösterdiğini ortaya koymaktadır.

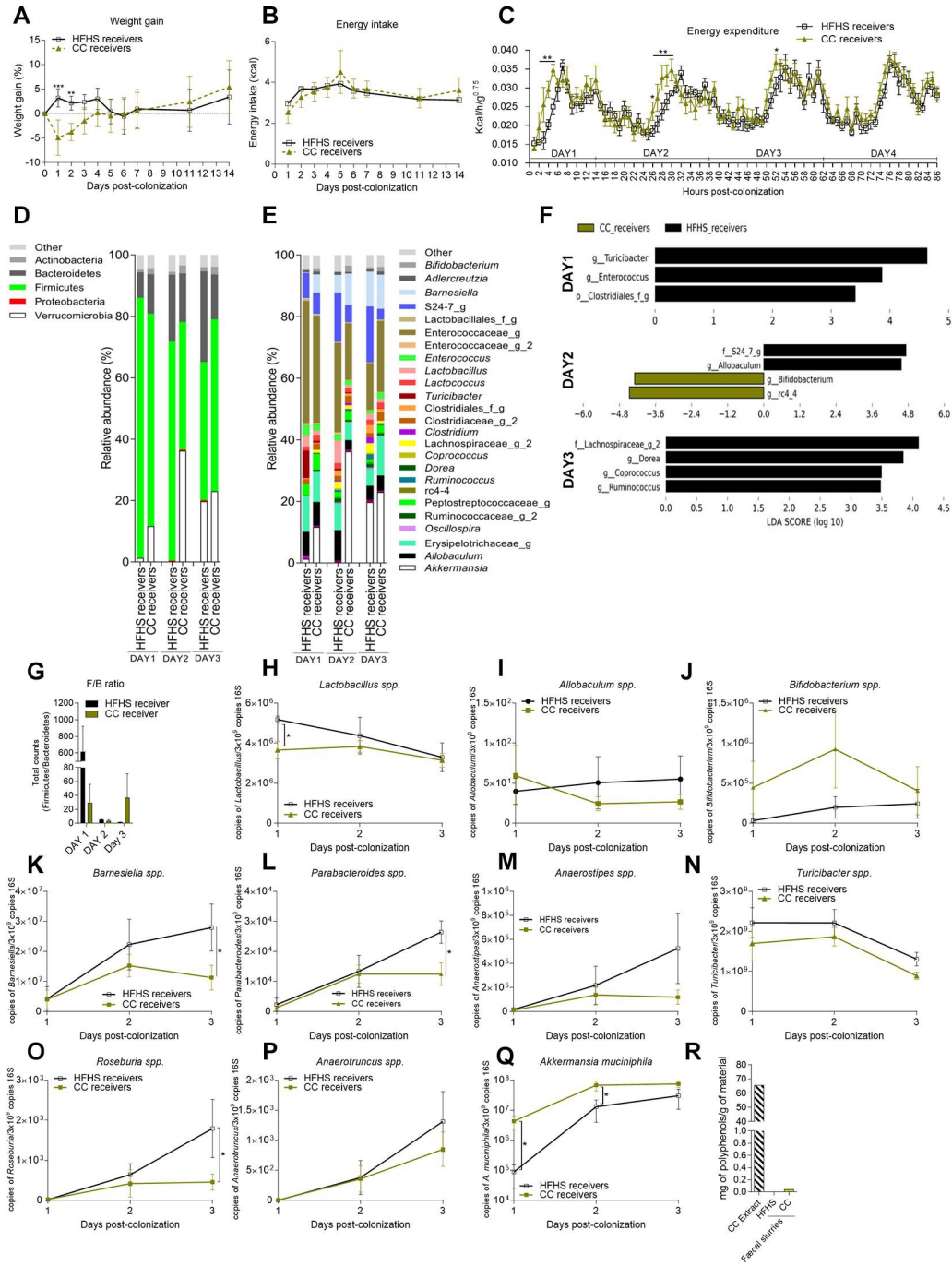
Table 2 Correlation between key gut microbial taxa and bile acids in CC-treated mice													
	LCA	CDCA	DCA	HDCA	UDCA	CA	HCA	α MCA	β MCA	ω MCA	TLCA	GCA	TCA
Faeces													
<i>Barnesiella</i>		0.16	0.24	0.11	0.16	-0.01	0.09	0.14	0.01	0.33	-0.37	-0.24	-0.01
<i>Turicibacter</i>		0.46	0.36	0.30	0.60	0.45	0.69	0.40	-0.28	0.49	0.11	0.08	-0.01
<i>Lactobacillus</i>		0.89	0.67	0.62	0.93	0.82	0.91	0.81	0.11	0.72	0.01	0.44	-0.01
<i>Akkermansia</i>		0.04	-0.26	0.04	-0.05	0.13	0.08	-0.07	-0.31	0.18	-0.05	-0.09	-0.01
Christensenellaceae		-0.22	-0.59	-0.42	-0.28	-0.13	-0.30	-0.48	-0.17	-0.30	-0.40	-0.19	-0.01
<i>Roseburia</i>		-0.26	-0.30	-0.27	-0.17	-0.22	-0.02	-0.11	-0.34	0.07	0.59	-0.19	-0.01
Lachnospiraceae		-0.12	-0.60	-0.68	-0.18	-0.03	-0.31	-0.46	0.22	-0.75	-0.16	0.17	0.01
<i>Delftia</i>		0.04	0.30	0.39	-0.03	0.04	-0.06	0.16	0.25	-0.03	0.02	0.36	0.01
<i>Anaerostipes</i>		0.84	0.50	0.39	0.82	0.75	0.79	0.66	0.09	0.56	-0.12	0.43	-0.01
Erysipelotrichaceae		-0.13	-0.01	0.18	-0.09	-0.10	-0.18	0.00	0.16	0.13	-0.35	-0.38	-0.01
<i>Bifidobacterium</i>		-0.34	0.40	0.45	-0.24	-0.40	-0.29	0.06	0.23	0.05	0.01	-0.34	-0.01
Plasma													
<i>Barnesiella</i>	-0.48	0.35	-0.44	-0.16	0.62	0.35		0.34	0.55	-0.04			0.01
<i>Turicibacter</i>	-0.07	-0.08	0.07	0.47	-0.19	0.08		-0.02	-0.14	-0.15			0.01
<i>Lactobacillus</i>	0.08	-0.12	0.05	0.66	-0.02	0.35		0.21	0.08	-0.02			0.01
<i>Akkermansia</i>	0.66	-0.29	0.03	-0.14	-0.29	-0.28		-0.35	-0.41	-0.58			0.01
Christensenellaceae	0.70	0.01	0.41	-0.19	-0.03	-0.25		-0.21	-0.22	-0.20			0.01
<i>Roseburia</i>	0.03	-0.17	-0.32	0.01	-0.47	-0.32		-0.39	-0.48	-0.37			-0.01
Lachnospiraceae	0.45	0.28	0.35	0.12	0.07	-0.31		-0.21	-0.23	0.19			-0.01
<i>Delftia</i>	-0.15	-0.23	0.30	0.04	-0.08	0.31		0.34	0.30	0.47			0.01
<i>Anaerostipes</i>	0.04	-0.04	-0.19	0.43	0.10	0.11		-0.01	-0.01	-0.25			-0.01
Erysipelotrichaceae	0.74	-0.41	0.31	-0.30	-0.19	-0.17		-0.18	-0.24	-0.34			0.01

Pearson'un kalın harflerle vurgulanması r istatistiksel olarak anlamlıdır.

CA, kolik asit; CDCA, kenodeoksikolik asit; DCA, deoksikolik asit; GCA, glikolik asit; GCDCA, glikokenodeoksikolik asit; GDCA, glikodeoksikolik asit; GLCA, glikolitolik asit; GUDCA, glikoürsodeoksikolik asit; HCA, hyokholik asit; HDCA, hyodeoksikolik asit; LCA, litokolik asit; TCA, tauro-kolik asit; TDCA, tauro-deoksikolik asit; TLCA, tauro-litokolik asit; TUDCA, tauro-ursodeoxycholic acid; T MCA, tauro- -murokolik asit; T MCA, tauro- -murokolik asit; T MCA, tauro- -murokolik asit; UDCA, ursodeoksikolik asit; MC, -murokolik asit; MCA, -murokolik asit; MCA, -murokolik asit.

Mikropsuz farelerin CC ile muamele edilmiş farelerin fekal mikrobiyotası ile yeniden oluşturulması enerji harcamasını artırır

Daha sonra CC ile tedavi edilen veya araçla tedavi edilen HFHS ile beslenen donör farelerin dışkı mikrobiyotası ile kolonize edilmiş germsiz fareler kullanılarak fekal mikrobiyota nakli (FMT) yaptık. Kolonizasyon sonrası 1, 2 ve 3 gün boyunca, HFHS alıcıları, başlangıçtaki vücut ağırlıklarının sırasıyla% 3,% 2 ve% 2.4'ünü kazanmıştır (şekil 5A ve çevrimiçi ek şekil 6a). Buna karşılık, CC alıcıları, 1 gün sonra kolonizasyon sonrası% 5 hızlı bir vücut ağırlığı kaybı, ardından 2 ve 3 günlerinde sırasıyla% 3.7 ve başlangıç vücut ağırlıklarının% 1.4 kaybı gösterdi (Şekil 5A). Bu, CC alıcıları ve HFHS alıcıları arasında 1. günde (p <0.001) ve 2 (p = 0.009) postkolonizasyon sonrası ağırlık artışında ve 3. günde korunma eğiliminde (p = 0.1) anlamlı farklılıklara neden oldu. enerji alımı ya da gruplar arasında fekal enerji atılımı (şekil 5B ve çevrimiçi ek rakamlar 6b, c). Kolonizasyon sonrası ilk günlerde yapılan dolaylı kalorimetri ölçümleri, 1 ve 2 numaralı kolonizasyon sonrası fiziksel aktivite ile ilgili olmayan enerji harcamasında belirgin bir artış olduğunu ortaya koydu. Bu etki 3. günde azaldı ve 4. günde kolonizasyon sonrası tamamen kayboldu (şekil 5C ve çevrimiçi ek rakamlar 6d – i).



Şekil 5

Mikropsuz farelerin camu camu (CC) ile muamele edilmiş farelerin fekal mikrobiyotası ile yeniden oluşturulması, CC uygulamasının kilo alımı ve enerji harcaması üzerindeki etkilerini özetlemektedir. Germ içermeyen fareler, ya yüksek yağ / yüksek sakaroz (HFHS) ile beslenen araçla muamele edilmiş farelerin (HFHS alıcıları, n = 7) veya CC ile muamele edilmiş farelerin (CC alıcıları, n = 7) dışkı karışımları ile sulandırıldı ve saklandı. Kolonizasyon sonrası ilk günlerde metabolik kafeslerde düşük yağlı bir diyet. Fareler daha sonra steril kafeslere aktarıldı ve spesifik patojensiz (SPF) koşullar altında tutuldu. (A) Kilo alımı; (B) enerji alımı; (C) enerji harcaması (metabolik vücut hızı ile vücut kütlesi arasındaki ilişki, metabolik vücut büyüklüğü, yani vücut kütlesi kullanılarak 75.75 olarak normalleştirilmiştir). (D, E) HFHS ve CC alıcılarının filum ve en düşük taksonomik düzeyde taksonomik profilleri kolonizasyon sonrası 1, 2 ve 3 gün sonra elde edildi (1. gün — n = 3; 2. gün — n = 5; 3. gün — n = 4). (F) HFHS ve CC alıcılarının bağırsak mikrobiyotasının 1., 2. ve 3. gün sonrasındaki günlerinde daha iyi ayırt edilmesi için mümkün olan en düşük taksonomik seviyede LEfSe takson analizi. (G) HFHS ve CC alıcılarında Firmicutes / Bacteroidetes (F / B) oranı (toplam

sayım Firmicutes / toplam sayım Bacteroidetes). (H – Q) Taksonlar qPCR kullanılarak ölçülmüş ve her taksonun kopya sayısı 16 x 3S 109 kopya (normal bakteri) ile normalleştirilmiştir. (R) CC'nin ekstraktında ve HFHS alıcı ve CC alıcı fareleri kolonileştirmek için kullanılan fekal bulamaçlarda bulunan toplam polifenollerin Folin-Cicalteu ile miktar tayini. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. İki noktadan tekrarlanan ölçümlerde Bonferroni post hoc testi ile varyans analizi, zaman noktaları arasındaki farkların önemini hesaplamak için kullanıldı. * P <0.05, ** p <0.01 ve *** p <0.001.

16S rRNA gen bazlı profillemesinde, HFHS alıcı ve CC alıcı farelerde 1. gün kolonizasyon sonrası günde farklı bağırsak mikrobiyal toplulukları tespit edildi (bkz. Çevrimiçi ek şekil 6j). Mikrobiyal topluluklar 2. günde yapılan kolonileşme işleminde daha da kümelenmiştir, bunu takiben HFHS-alıcı ile CC-alıcı bağırsak mikrobiyotası arasında 3. günde kolonizasyon sonrası daha yüksek benzerlik olmuştur (bakınız çevrimiçi ek şekil 6k, l). Kolonizasyon sonrası 1. günde görülen farklılıklar çoğunlukla düşük Firmicutes / Bacteroidetes oranının ve Verrucomicrobia'nın daha yüksek bulunma eğilimiyle açıklanmıştır (şekil 5D, G ve çevrimiçi ek tablo 6). CC alıcılarında Verrucomicrobia'nın artan bolluğu, kolonizasyon sonrası 2. günde şiddetlendi, istatistiksel olarak anlamlı seviyelere ulaştı ve 3. günde kaybedildi (şekil 5D ve çevrimiçi ek tablo 6). Verrucomicrobia, yalnızca farelerin ve insanların bağırsak mikrobiyotasındaki A. muciniphila tarafından temsil edildiğinden, ikincisi, kolonizasyon sırasında HFHS alıcılarına karşı CC alıcılarındaki kadar sıkı (şekil 5E ve çevrimiçi ek tablo 7). A. muciniphila'nın yanı sıra, 1. postkolonizasyonun 1. gününde düşük taksonomik seviyede yapılan analiz, HFHS alıcılarına karşı CC alıcılarında sınıflandırılmamış Lactobacillales ve Lactobacillus ve Turicibacter'de daha düşük miktarda olduğunu ortaya koydu (Şekil 5E, F ve çevrimiçi ek tablo 7). Barnesiella, CC alıcılarında post-kolonizasyon sonrası 1. ve 2. günlerde daha yüksek bir eğilim göstermiştir (şekil 5E, F ve çevrimiçi ek tablo 7). 2. günde, CC alıcıları daha yüksek oranlarda rc4-4 (Peptococcaceae familyasında bir cins) ve Bifidobacterium'u ve Bacteroidales S24-7 ve Allobaculum'un düşük bolluğunu (şekil 5E, F ve çevrimiçi ek tablo 7) gösterdi. 3. günde, CC alıcılarında Lachnospiraceae, Dorea, Coprococcus ve Ruminococcus gibi Firmicutes'un baskınlığının artması, CC ile tedavi edilen ve HFHS ile tedavi edilmiş farelerin dışkı süspansiyonları ile yeniden yapılandırılmış farelerin bağırsak mikrobiyal toplulukları arasındaki farkları büyük ölçüde azaltmıştır (şekil 5E, F, FE ile tedavi edilmiş). ve çevrimiçi ek tablo 7). HFHS ve CC alıcılarının bağırsak mikrobiyotası genellikle donör farelerinkinden farklıydı (Şekil 3D-G). İstisnalar, 1. ve 2. gün postkolonizasyonda A. muciniphila ve Barnesiella bolluğu, 1. postkolonizasyonda düşük Lactobacillales ve 2. günde postkolonizasyonda yüksek Bifidobacterium, CC alıcılarında görülen ve CC ile tedavi edilen donör farelerde gözlenen özelliklerdir. Bu veriler, kısa süreli kolonizasyonun donör farelerle karşılaştırılabilir stabil bir bağırsak mikrobiyotası oluşturmak için yeterli olmamakla birlikte, CC ile tedavi edilmiş farelerdeki fekal mikrobiyotada zenginleştirilmiş birkaç taksonun modelimizde enerji harcamalarını arttırmak için yeterli olduğunu göstermektedir.

QFRR'yi, HFHS ve CC alıcılarının fekal örneklerinde CC ile tedavi edilmiş fareler tarafından barındırılan anahtar filotiplerin bolluğunu değerlendirmek için kullandık. Kolonizasyon sonrası 1. günde, HFHS alıcılarıyla karşılaştırıldığında CC alıcılarının dışkısında düşük Lactobacillus spp ve yüksek A. muciniphila bolluğu bulundu (Şekil 5H-Q). İlginçtir ki, sadece A. muciniphila, CC alıcılarının bölgelerinde HFHS alıcılarıyla karşılaştırıldığında, 2. günde yapılan kolonizasyon sonrası anlamlı şekilde zenginleşti (Şekil 5Q). qPCR analizi, HFHS alıcılarına karşı CC alıcılarında 1 ve 2 postkolonizasyon sonrası 16S sıralama analizi ile bulunan Bifidobacterium spp, Barnesiella spp, Allobaculum spp ve Turicibacter spp'deki değişiklikleri doğrulamamıştır (şekil 5I – K, N). Parabacteroides, Anaerostipes, Anaerotruncus ve

Roseburia varlığı da kolonizasyon sonrası ilk 2 gün boyunca farklı değildi (şekil 5L, M, O, P). Bu sonuçlar A. muciniphila ve Lactobacillus spp'nin diyetle indüklenen obez farelerde artan enerji harcaması ve CC uygulamasında kilo alımında önemli bir etken olduğunu göstermektedir.

CC ile muamele edilmiş ve araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen donör farelerden kalan fekal bulamaçları bir araya toplanmış ve bu numunelerdeki toplam polifenol miktarı Folin-Ciocalteu testi ile değerlendirilmiştir. Şekil 5R'de gösterildiği gibi, CC ile muamele edilmiş dışkılarından yapılan süspansiyonlarda 4.58 mg polifenol / 100 g dışkı bulduk. Bu konsantrasyon, CC ekstraktında bulunan polifenolik konsantrasyondan 1430x daha düşüktür (yani, 6550 mg / 100 g, şekil 5R ve tablo 1), CC alıcılarında görülen fenotipin, dışkı süspansiyonlarında bulunan polifenollerden kaynaklanmadığını kuvvetle belirtir.

Tartışma

HFHS ile beslenen farelerin günlük olarak zengin bir bitkisel gıda karışımı içeren bir CC özüt ekstresi ile tedavisinin diyetle indüklenen obeziteyi önlemek ve metabolik sendromu iyileştirmek için yeterli olduğuna dair kanıtlar sunuyoruz. Çalışmamız, CC tedavisinin yararlı etkisinin altında yatan bazı temel mekanizmaları açıklamaktadır. CC'nin anti-obezite etkisi, enerji alımındaki veya atılımındaki değişikliklerle ilişkili değildir ve daha çok artan enerji harcaması ve uyarlanabilir termojenez ile ilişkilendirilir. CC tedavisi aynı zamanda lipogenez ve aktive edilmiş lipolizi ve yağ dokularında serbest yağ asidi oksidasyonunu sınırladı ve bu da bu farelerde yağ kütlesi kazanımının artmasına katkıda bulundu. Verilerimiz değişmiş plazma BA havuz büyüklüğü ve kahverengi yağ aktivasyonu ve deri altı beyaz yağın kızarması ile tutarlı kompozisyon için olası bir rolü ortaya koymaktadır. Bulgularımız, bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin, CC tedavisinin anahtar metabolik faydaları ile bağlantılı olduğunu göstermektedir. İlginç bir şekilde, çevrimiçi ek şekil 1j, k'de gösterildiği gibi, CC ile tedavi edilen fareler, araçla tedavi edilen HFHS ile beslenen farelere göre daha erken aktif hale geldi.

CC bazlı ürünler, yüksek C vitamini içeriği ve güçlü antioksidan potansiyeli iddia ettikleri için yaygın olarak pazarlanmaktadır.13 Farelerin günlük 200 mg / kg CC'de (yani 6.6 mg'da bulunan aynı C vitamini dozu ile tedavi edildiğini gösterdik. / kg), araçla tedavi edilen HFHS ile beslenen farelere kıyasla yağ kütlesi kazancı sergiledi; bu da, yalnızca C vitamininin, CC'nin anti-obezite etkilerine nedensel olarak dahil olmadığını ileri sürüyor. CC özü, CC işleminin faydalarına muhtemelen katkıda bulunan lifler açısından da zengindir. Bununla birlikte, CC farelerinde artmış dışkı enerjisi atılımı (tipik olarak lif açısından zengin diyetler özelliği) görülmemiştir ve bu, liflerin küçük bir etkisi olduğunu göstermektedir.

CC tedavisi, BA havuz büyüklüğü ve bileşiminde HFHS kaynaklı artışı önledi. BA, Shp'yi aktive eden FXR'ye bağlanır ve daha sonra karaciğerde kendi sentezini inhibe eder ve ileumda alım yapar. İleumdaki FXR aktivasyonu ayrıca, Fgfr4'e bağlanma yoluyla karaciğerdeki BA sentezinin aşağı regülasyonuna katkıda bulunan Fgf15 salgılanmasını tetikler. Sonuçlarımız, CC ile tedavi edilen HFHS farelerinde bulunan BA havuzunun boyutunun, muhtemelen bu farelerin ileumundaki FXR aktivitesinin düşürülmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu sonuç, CC farelerinin ileumundaki düşük Shp mRNA seviyelerine dayanmaktadır, çünkü Nr1h4'ün mRNA ifadesi (FXR'yi kodlar) aktivitesini zayıf şekilde yansıtmaktadır.24 25 Şaşırtıcı bir şekilde, hız sınırlayıcı enzimin hepatik mRNA ifadesi BA sentezi, Cyp7a1, Shp'in mRNA seviyeleri ile birlikte CC uygulamasından etkilenmedi. FXR antagonistlerinin (örn., TAMCA,

TβMCA) bolluğu, CC farelerinin BA havuzundaki FXR agonistlerinde (örn. CDCA) bir artışla birleştiğinde, bu gibi bir FXR uyarıcı BA profilinin olabileceğini varsaydık azaltılmış BA havuz boyutunun inhibe edici etkisini telafi eder, bu nedenle CC farelerinde BA sentezini kontrol eden FXR aracılı negatif geri besleme döngüsünü bozar ve dolaşımdaki BA seviyelerini araçla muamele edilmiş HFHS ile beslenen farelerden daha düşük tutar. Gelecekte yapılacak çalışmalar, CC'nin BA homeostazını etkileyen mekanizmaları tamamen deşifre etmek için garanti altına alınmakla birlikte, CC tedavisinin HFHS ile beslenen farelerde plazma BA profilini azaltması büyük ilgi çekmektedir.

Sonuçlarımız, CC farelerinin plazma BA profilinin, CC farelerinde kahverengi yağ aktivasyonunu ve deri altı yağının esmerleşmesini arttırmakla alakalı olabileceğini ve bağırsak mikrobiyosunun bu etkide rol oynadığını göstermektedir. Akkermansia'nın dolaşımdaki birkaç BA ile pozitif korelasyon göstermesi özellikle ilginçtir, çünkü CDCA ve özellikle ikincil BA DCA ve UDCA'nın, kahverengi adipositlerin tiroid hormonuna tepkisini güçlendirmek ve buradaki titreme yapmayan termojenezini aktive etmek için TGR5 yoluyla etki ettiği gösterilmiştir. Aynı zamanda, CC farelerinin BAT'ında Ucp1 ve TGR5 mRNA ifadesi arasında güçlü bir korelasyon bulduk. Dahası, bağırsak Fgf15 hormonunun Fgfr4 aktivasyonu ile beyaz yağ depolarının termojenezini ve esmerleşmesini tetiklediği gösterilmiştir. CC'de fareler Fgf15'e artan yanıtla ilişkilidir. Enerji tüketimini arttırmak için CC farelerinde bulunan BA havuzunun büyüklüğünün ve bileşiminin doğrudan katkısı daha fazla araştırmayı garanti etse de, çalışmamız, çapraz konuşma BA-gut mikrobiyotasının ve fitokimyasal yünden zenginliğin anti-obezite etkileri ile ilişkisine dair yeni görüşler getirdi ekstreler.

Değişmiş BA profili, CC ile tedavi edilmiş farelerde bağırsak mikrobiyotasının yeniden şekillendirilmesine katkıda bulunabilir. BA, antimikrobiyal moleküller²⁶ ve enterohepatik dolaşımda taurine konjuge edilmiş BA'nın varlığını destekleyen yüksek doymuş yağ beslemesinde gözlemlenen BA havuzu, bağırsakta BA-dirençli bakterilerin (örneğin, Bilophila wadsworthia ve Lactobacillus spp) genişlemesiyle ilişkili ortam.^{24 27} CC farelerinde bulunan BA havuz büyüklüğünün azaltılması, Lactobacillus spp'in rekabet avantajını ortadan kaldırılabılır ve bağırsaktaki varlığının azaltılmasına katkıda bulunabilir. CC fitokimyasallarının alımıyla ilişkili lümendeki antioksidan potansiyelindeki muhtemel artış, oksijen mevcudiyetini sınırlandırabilir ve Lactobacilli gibi fakültatif anaerob türlerinin çiçeklenmesini tehlikeye atabilir. Bu hipotez, antioksidan tempol ile tedavi edilen farelerde gözlenen Lactobacillus spp bolluğundaki büyük bir azalma ile desteklenir.²⁴

CC, diyet ile indüklenen obez farelerin bağırsak mikrobiyotasındaki A. muciniphila popülasyonunu belirgin şekilde arttırdı. Bu, A. muciniphila'nın metabolik faydalarını gösteren birkaç raporla uyumludur.^{28 29} Ayrıca, biz ve başkaları daha önce diyet proantosiyanidin (PAC) -rich berry özütleri ile A. muciniphila.⁹ üzerindeki prebiyotik benzeri etki arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. ^{10 30} Daha önce bildirildiği gibi, ¹³ analizimiz CC ekstraktında kayda değer miktarda galloylated PAC konsantrasyonunu göstererek, PAC'lerin A. muciniphila üzerindeki etkisine işaret etti. CC, aynı zamanda ellagitanninler açısından da zengindir ve ellagitannin bakımından zengin özler, in vitro A. muciniphila'nın büyümesini engelliyor gibi görünmekle birlikte, bu bakteri, in vivo olarak A. muciniphila'ya rekabet avantajı sağlayabilen ellagitanninler ve ellagik asidi bozabilecek özelliktedir.³¹ Ancak insanlarda ellagitandan zengin nar suyunun alımı, A. muciniphila'nın varlığını arttırmadı, bu da diğer polifenollerin ve A. muciniphila'nın önceden var olan bolluğunun önemli faktörler olduğunu ortaya koydu.^{32 33} fito-besinler, bağırsak mikrobiyal ortamını, A. muciniphila'nın daha fazla araştırılmasını garanti altına almak için modifiye eder, A. muciniphila ve BA arasındaki etkileşim de büyük ölçüde bilinmemektedir. KEGG veri tabanındaki bir araştırma, A. muciniphila genomundaki

BA dekonjugasyon / dehidroksilasyona bağılı yolların olmadığını gösterdi, ancak bu mikrop, bağırsak ortamında, belirli BA'nın antimikrobiyal etkisine direnç sağlayabilen çok spesifik bir niş kaplar. Bu bakterinin BA'ya dönüşme ve direnç gösterme yeteneğini test etmek için in vitro deneyler garanti edilir.

Dışkı nakli deneyleri, CC ile muamele edilmiş farelerin bağırsak mikrobiyotasının, mikropsuz alıcı farelerde geçici olarak ve kısmen tekrar özetleyebileceğini, CC ile muamele edilmiş geleneksel farelerin fenotipini ortaya çıkardığını ortaya koydu. Alıcı farelere, büyük bir obezogenik basıncı çıkarmak için düşük yağlı bir diyet uygulandı ve bu nedenle kısa vadede FMT'nin vücut ağırlığı üzerinde ölçülebilir bir etkisinin olmasına izin verildi. Dışkı süspansiyonlarının, bakteri ve / veya mikrobiyal moleküllerin etkisine işaret eden yalnızca ihmal edilebilir miktarda polifenol içerdiği de belirtilmelidir. Kolonizasyon yaklaşımımız CC alıcı farelerde CC donör farelerinininkine kıyasla stabil bir bağırsak mikrobiyotası oluşturmazken, birleştirilmiş 16S tabanlı sıralama ve qPCR analizi, enerji harcamasını artırmak ve kilo alımını azaltmak için birkaç önemli taksonun yeterli olduğunu göstermektedir. A. muciniphila, bolluğu sırasıyla kolonizasyon sonrası birinci ve ikinci günlerde sırasıyla% 11.6 ve% 36.22 gibi yüksek olduğu için büyük bir katkı sağlar. Bu, A. muciniphila'nın diyetle indüklenen obez farelere oral yoldan uygulanmasının, obeziteyi metabolik sendromun diğer özellikleri ile birlikte azalttığını gösteren önceki çalışmalarla desteklenmektedir.28 29 34 Ancak, A. muciniphila'nın bolluğu üçüncü günde de yüksektir. Kolonizasyon sonrası, oksijen tüketimi ve vücut ağırlığı değişimi CC alıcı ve HFHS alıcı fareler arasında benzer hale geldiğinde, düşük Lactobacillus ve daha yüksek Bifidobacterium gibi diğer bağırsak mikrobiyal özelliklerinin de rol oynayabileceğini gösterir. Bu, Lactobacillus ve obezite 35-37 arasındaki pozitif ilişkiyi ve Bifidobacterium ve obezite arasındaki negatif korelasyonları gösteren önceki çalışmalarla uyumlu olacaktır.36 38

Teşekkürler

Yazarlar, Christine Dion, Christine Dallaire, Valérie Dumais ve Joanie Dupont-Morissette'ye hayvan bakımı konusundaki uzman yardımları için teşekkür ediyor.

Referanslar

- 1) Finucane MM, Stevens ga, cowan MJ, vd. 1980'den beri vücut kitle indeksinde ulusal, bölgesel ve küresel eğilimler: sağlık muayenesi anketlerinin sistematik analizi 960 ülke ve 9 1 milyon katılımcı ile epidemiyolojik çalışmalar. Lancet 2011; 377: 557-67.
- 2) Kelly, Yang, Chen cS, vd. 2005'te küresel obezite yükü ve 2030'a tahminler. Int J Obes 2008; 32: 1431-7.
- 3) Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow rc, vd. 21. yüzyılda Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşam beklentisi potansiyel bir düşüş. N Engl J Med 2005; 352: 1138-45.
- 4) ridaura VK, Faith JJ, rey Fe, vd. obezite için uygun olmayan ikizlerden bağırsak mikrobiyota farelerde metabolizmayı modüle eder. Science 2013; 341: 1241214 sayılı belge.
- 5) sezar r, tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, vd. Bağırsak Mikrobiyota ve Diyet lipidleri arasındaki karışma, tlr Sinyalleme yoluyla Wat iltihabını arttırır. Celi Metab 2015; 22: 658-68.
- 6) David la, Maurice, F. carmody rn, vd. Diyet hızla ve tekrarlanabilir bir şekilde insan bağırsağı mikrobiyomunu değiştirir. Nature 2014; 505: 559-63.

- 7) Zhernakova a, Kurilshikov a, Bonder MJ, vd. Nüfus temelli metagenomik analizler bağırsak mikrobiyomu kompozisyonu ve çeşitliliği için belirteçleri ortaya koymaktadır. Science 2016; 352: 565-9.
- 8) Falony g, Joossens M, Vieira-Silva S, vd. Bağırsak mikrobiyom varyasyonunun popülasyon düzeyinde analizi. Science 2016; 352: 560-4.
- 9) anhê FF, roy D, Pilon g, vd. polifenol bakımından zengin bir kızılçık özü, artan akkermansia spp. ile birlikte diyetle indüklenen obezite, insülin direnci ve bağırsak iltihabından korur farelerin bağırsak mikrobiyotasındaki popülasyon. Bağırsak 2015; 64: 872-83.
- 10) Roopchand De, carmody rn, Kuhn P, vd. Diyet polifenolleri, bağırsak bakteri akkermansia muciniphila'nın büyümesini teşvik eder ve yüksek yağlı diyetle indüklenen metabolik sendromu hafifletir. Diyabet 2015; 64: 2847-58.
- 11) Bataglion ga, da Silva FMa, eberlin Mn, vd. Brezilyalı tropik meyvelerden fenolik bileşimin UHPLC-MS / MS ile belirlenmesi. Food Chem 2015; 180: 280-7.
- 12) Langley Pc, Pergolizzi JV, taylor r, vd. camu camu antioksidan ve ilişkili kapasiteleri (Myrciaria dubia): sistematik bir derleme. J Alternatif Tamamlayıcı Med 2015; 21: 8-14.
- 13) Fracassetti D, kosta c, Moulay 1, vd. ellagik asit türevleri, ellagitanninler, proantosyanidinler ve diğer fenolikler, camu-camu meyvesinden (Myrciaria dubia) iki toz ürünün c vitamini ve antioksidan kapasitesi. Food Chem 2013; 139: 578-88.
- 14) Feldmann HM, golozoubova V, top B, ve ark. UcP1 ablasyonu, obeziteyi indükler ve termo-nötrallitede yaşayarak, termal stresten muaf farelerde diyetle bağlı termogenezi ortadan kaldırır. Celi Metab 2009; 9: 203-9.
- 15) Helppi J, Schreier D, naumann r, vd. Fare üreme zindeliği, bireysel olarak havalandırılan kafeslerde muhafaza edildiğinde 28 an ortam sıcaklığına kadar korunur. Lab Anim 2016; 50: 254-63.
- 16) Kleiber M. Vücut büyüklüğü ve metabolizma hızı. Physiol Rev 1947; 27: 511-41.
- 17) Kim KW, Donato J, Berglund ve diğerleri. Ventromedial hipotalamustaki FOXO1 enerji dengesini düzenler. J Clin Invest 2012; 122: 2578-89.
- 18) cotillard a, Kennedy SP, Kong lc, vd. Diyet müdahalesinin bağırsak mikrobiyal gen zenginliği üzerindeki etkisi. Nature 2013; 500: 585-8.
- 19) le chatelier e, nielsen, Qin J, vd. İnsan bağırsağı mikrobiyomunun zenginliği metabolik belirteçlerle koreledir. Nature 2013; 500: 541-6.
- 20) Yasir M, angelakis e, Bibi F, vd. Fransa ve Suudi Arabistan'daki insanların bağırsak mikrobiyotasının karşılaştırılması. Nutr Diyabet 2015; 5: e153.
- 21) Watanabe M, Houten SM, Matakı c, et al. Safra asitleri, hücre içi tiroid hormonu aktivasyonunu teşvik ederek enerji harcamasını teşvik eder. Nature 2006; 439: 484-9.
- 22) thomas c, gioiello a, noriega l, vd. tgr5 aracılı safra asidi algılaması glukoz homeostazını kontrol eder. Celi Metab 2009; 10: 167-77.
- 23) Fang S, Suh JM, reilly SM, vd. Bağırsak FXr agonizmi, yağ dokusu esmerleşmesini teşvik eder ve obezite ve insülin direncini azaltır. Nat Med 2015; 21: 159-65.
- 24) F, Jiang c, Krausz KW, vd. Mikrobiyomun yeniden şekillenmesi bağırsak farnesoid X reseptörü sinyalinin inhibe edilmesine ve obezitenin azalmasına yol açar. Nat Commun 2013; 4: 2384.
- 25) Watanabe M, Horai Y, Houten SM, vd. safra asidi havuzu boyutunun sentetik bir farnesoid X reseptörü (FXr) agonisti ile düşürülmesi, enerji harcamasının azalmasıyla şişmanlığa ve diyabete neden olur. J Biol Chem 2011; 286: 26913-20.
- 26) ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB ve diğ. Safra asitleri ve bağırsak mikrobiyomu. Curr Opin Gastroenterol 2014; 30: 332-8.
- 27) Devkota S, Wang Y, Musch MW, vd. Diyet-yag kaynaklı tarakolik asit il10 - / - farelerde patobiyotik genişleme ve kolit teşvik eder. Nature 2012; 487: 104-8.

- 28) Plovier H, everard a, Druart c, vd. akkermansia muciniphila veya pastörize edilmiş bakteriden elde edilen saflaştırılmış bir zar proteini, obez ve diyabetik farelerde metabolizmayı geliştirir. Nat Med 2017; 23: 107–13.
- 29) everard a, Belzer c, geurts 1, vd. akkermansia muciniphila ve intestinal epitel arasındaki çapraz konuşma diyet kaynaklı obeziteyi kontrol eder. Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110: 9066–71.
- 30) anhê FF, Varin tV, le Barz M, vd. obeziteye bağlı metabolik hastalıklarda ve polifenol bakımından zengin ekstraktların prebiyotik potansiyelinde bağırsak mikrobiyota dysbiosis. Curr Obes Rep 2015; 4: 389-400.
- 31) Henning SM, Summanen PH, lee rP, vd. Nar ellagitanninler, akkermansia muciniphila'nın in vivo büyümesini uyarır. Anaerobe 2017; 43: 56-60.
- 32) gonzález-Sarriás a, garcía-Villalba r, romo-Vaquero M, vd. ürolitin metabotipine göre kümeleme, nar tüketen aşırı obez bireylerde kardiyovasküler risk biyobelirteçlerinin geliştirilmesinde bireylerarası değişkenliği açıklar: randomize bir klinik çalışma. Mol Nutr Food Res 2017; 61: 1600830.
- 33) Mosele Ji, Gosalbes MJ, Macia a, vd. nar suyunun günlük alımının sağlıklı gönüllülerden fekal mikrobiyota ve dışkı metabolitleri üzerine etkisi. Mol Nutr Food Res 2015; 59: 1942–53.
- 34) anhê FF, Marette a. metabolik sendromu hafifleten bir mikrobik protein. Nat Med 2017; 23: 11-12.
- 35) Han M, raoult D, richet H, vd. tavuklarda intragastrik olarak uygulanan tek doz probiyotiklerin büyümeyi teşvik edici etkileri. Br Poult Sci 2007; 48: 732-5.
- 36) Milyon M, Maraninchi M, Henry M, vd. Obezite ile ilişkili bağırsak mikrobiyotası, lactobacillus reuteri'de zenginleştirilir ve Bifidobacterium animalis ve Methanobrevibacter smithii'de tüketilir. Int J Obes 2012; 36: 817–25.
- 37) armougom F, Henry M, Vialettes B, vd. İnsan bağırsağı mikrobiyotasının bakteriyel topluluğunun izlenmesi obez hastalarda laktobasillerde ve anoreksik hastalarda metanojenlerde artış olduğunu ortaya koymaktadır. PLoS One 2009; 4: e7125.
- 38) bir HM, Park SY, lee DK, vd. Bifidobacterium spp.'nin antiobesitesi ve lipit düşürücü etkileri yüksek yağlı diyet kaynaklı obez sıçanlarda. Lipids Health Dis 2011; 10: 116.