

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE
İNTESTİNAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

**Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2024**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE
İNTESTİNAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

**Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Aylin AYAZ**

ANKARA

2024

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE İNTESTİNAL
MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

Danışman: Prof. Dr. Aylin AYZ

Bu tez çalışması 28.05.2024 tarihinde jürimiz tarafından “Beslenme ve Diyetetik Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Alev KESER <i>(Ankara Üniversitesi)</i>
Üye:	Prof. Dr. Gülhan SAMUR <i>(Hacettepe Üniversitesi)</i>
Üye:	Prof. Dr. Hilal YILDIRAN <i>(Gazi Üniversitesi)</i>
Üye:	Prof. Dr. Aslı AKYOL MUTLU <i>(Hacettepe Üniversitesi)</i>
Üye:	Prof. Dr. Mevlüde KIZIL <i>(Hacettepe Üniversitesi)</i>

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezim kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

28 /05/2024

(İmza)

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

i

ⁱ“*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Aylin AYZAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

(İmza)

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, yürütülmesi ve tüm akademik hayatım boyunca bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, sabır, hoşgörü ve desteğini esirgemeyen, yoluma ışık tutan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Aylin AYZAZ'a,

Tezin deneysel analiz kısmında bilgi ve tecrübesini benimle paylaşayan ve analizleri yapmamda bana yardım eden Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e ve Doç. Dr. Ceren ÖZKUL KOÇAK'a,

Deney hayvanlarından veri toplama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Vet. Hek. Simgе GARLI ve Dr. Öğr. Üyesi Zeki EROL'a,

Tezin deneysel sürecinde stresimi paylaşan, bilgi ve fikirleriyle yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Sümeyye KEMANECİ'ye,

Lisans hayatımın başlangıcından itibaren yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen canım dostlarım Arş. Gör. Ece YALÇIN PEHLİVAN, Arş. Gör. Dr. Elif ÇELİK, Uzm. Ecz. Neslihan AKSU ve Arş. Gör. Seray AKALIN SAYGILI'ya,

Hayatımın her anında beni destekleyen, sonsuz sevgilerini her zaman hissettiğim en büyük şansım annem Fatma BEKAR'a, canım babam Coşkun BEKAR'a ve biricik abim Sabri Can BEKAR'a,

Sevgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan, karamsarlığa düştüğüm her an elimden tutup beni aydınlatan Ali İhsan KARAÇOLAK'a,

Tüm kalbimle sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, TÜBİTAK tarafından "Hızlı Destek Programı (1002)" kapsamında 221S218 proje numarasıyla desteklenmiştir. Ayrıca doktora sürecim boyunca bursiyeri olduğum, TÜBİTAK BİDEB 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Bursu kapsamında maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

ÖZET

Bekar, C. Gıda Emülgatörleri ve İnülinin Farelerde İntestinal Mikrobiyota Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Günümüzde işlenmiş besinlerin aşırı tüketimi ile karakterize Batı tarzı beslenme modeli oldukça yaygındır. Emülgatörler, işlenmiş besinlerde yaygın olarak kullanılan gıda katkı maddesi olup, mikrobiyotayı değiştirdiği ve intestinal inflamasyona neden olduğu bildirilmiştir. Prebiyotikler konakçı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak fermente edilerek gastrointestinal mikrobiyotanın aktivitesini değiştirmektedir. Bu çalışmada, farelere verilen farklı emülgatörlerin (lesitin ve sodyum karboksi metil selüloz-CMC) ve bir prebiyotik olan inülinin mikrobiyota ve intestinal inflamasyon üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 4 haftalık C57BL/6 erkek fareler (n=30) 12 hafta süresince 5 farklı grupta (n=6/grup) takip edilmiştir; kontrol grubu, CMC grubu (içme suyuna %1 CMC eklenen) lesitin grubu (içme suyuna %1 lesitin eklenen), CMC+inülin grubu (içme suyuna %1 CMC ve 5 g/kg inülin eklenen) ve lesitin+inülin grubu (içme suyuna %1 lesitin ve 5 g/kg inülin eklenen). Fareler çalışma boyunca standart yemle *ad libitum* beslenmiştir. Farelerin serum (interlökin-6, 10) ve dışkı (lipokalin-2) örneklerinde inflamatuvar belirteçler analiz edilmiş, histopatolojik incelemeler ve mikrobiyota analizi yapılmıştır. CMC ve lesitin grubundaki farelerin ileum ve kolonlarında villuslarda kısalma ve kütleşme, goblet hücrelerinde azalma gözlenmiştir. Bu gruplara inülin eklenmesinin villuslarda uzama sağladığı ve goblet hücre sayısını artırdığı belirlenmiştir (p<0,001). Serum IL-6 seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmazken (p>0,05), IL-10 seviyeleri emülgatör verilen gruplarda azalmış, bu gruplara inülin verilmesiyle artmıştır (p=0,001). CMC verilen grupta 9,7±3,29 ng olan lipokalin seviyesi, inülin eklenmesiyle 4,1±2,98 ng'a düşmüştür (p=0,012). Beta çeşitlilik analizleri mikrobiyal komünite yapısının gruplar arasında anlamlı olarak değiştiğini göstermektedir (p=0,001). Mikrobiyota kompozisyonu taksonomik olarak incelendiğinde CMC+inülin grubunda *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobiota* filumlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. CMC grubunda kontrole göre daha düşük olan *Bifidobacteria* ve *Akkermansia* varlığının CMC+inülin grubunda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Mikrobiyota kompozisyonu üzerine CMC'nin lesitinden daha fazla olumsuz etkisi olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, gıda emülgatörleri epitel bütünlüğünü bozarak ve mikrobiyota kompozisyonunu değiştirerek bağırsak sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmanın sonucunda tanımlanan mekanizmalar göz önünde bulundurularak, besin sanayinde farklı prebiyotikler kullanılarak emülgatörlerin sağlık üzerine olumsuz etkilerini önlemede yeni formülasyonların geliştirilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karboksimetil selüloz, lesitin, inülin, inflamasyon, intestinal mikrobiyota

Bu çalışma TÜBİTAK- Hızlı Destek Programı (1002) kapsamında desteklenmiştir (Proje Numarası: 221S218).

ABSTRACT

Bekar, C. Assessment of the Effect of Food Emulsifiers and Inulin on Intestinal Microbiota in Mice. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Programme of Nutrition and Dietetics Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2024. Nowadays, the Western-style diet, characterized by high consumption of processed foods, is quite common. Emulsifiers are food additives commonly used in processed foods and have been reported to alter the microbiota and cause intestinal inflammation. Prebiotics are selectively fermented by host microorganisms and change the activity of the gastrointestinal microbiota. This study aimed to investigate the effects of different emulsifiers (lecithin and sodium carboxy methyl cellulose-CMC) and prebiotic inulin given to mice on microbiota and intestinal inflammation. In this study, 4-week-old C57BL/6 male mice (n=30) were followed in 5 different groups (n=6/group) for 12 weeks; control group, CMC group (1% CMC added to drinking water), lecithin group (1% lecithin added to drinking water), CMC+inulin group (1% CMC and 5 g/kg inulin added to drinking water) and lecithin+inulin group (1% lecithin and 5 g/kg inulin added to drinking water). Mice were fed *ad libitum* with standard feed throughout the study. Inflammatory markers were analyzed in the serum (interleukin-6, 10) and fecal (lipocalin-2) samples of the mice, histopathological examinations and microbiota analysis were performed. In the CMC and lecithin group, villus shortening and bulking, and a decrease in goblet cells were determined in the ileum and colon of the mice. We observed that the administration of inulin to these groups elongated the villus and increased the number of goblet cells ($p<0.001$). While there was no significant difference between the groups in terms of serum IL-6 levels ($p>0.05$), IL-10 levels decreased in the groups given emulsifier and increased when inulin was given to these groups ($p=0.001$). The lipocalin level, which was 9.7 ± 3.29 ng in the group given CMC, decreased to 4.1 ± 2.98 ng with the addition of inulin ($p=0.012$). Beta diversity analyzes showed that the microbial community structure varied significantly between groups ($p=0.001$). When the microbiota composition was examined taxonomically, it was seen that *Actinobacteria* and *Verrucomicrobiota* phyla were found to be higher in the CMC+inulin group. It was determined that the presence of *Bifidobacteria* and *Akkermansia* which was lower in the CMC group than the control group, was higher in the CMC+inulin group. It was determined that CMC had a more negative effect on microbiota composition than lecithin. Considering the mechanisms identified as a result of this study, it is thought that new formulations can be developed to prevent the negative effects of emulsifiers on health by using different prebiotics in the food industry.

Key Words: Carboxymethyl cellulose, lecithin, inulin, inflammation, intestinal microbiota

This study was supported by TÜBİTAK- Short-Term Support Module (1002) (Project Number: 221S218).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İntestinal Mikrobiyota ve Sağlık	4
2.2. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	10
2.3. Gıda Katkı Maddeleri	16
2.3.1. Gıda Emülgatörleri	18
2.4. Prebiyotikler	22
2.4.1. İnülin	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Sayısı	31
3.2. DeneY Hayvanlarının Temini ve Bakımı	32
3.2.1. DeneY Hayvanlarına Emülgatör Uygulaması	34
3.2.2. DeneY Hayvanlarına İnülin Uygulaması	34
3.3. Gaita ve Serum Örneklerinin Alınması, Ötenazi Yöntemi ve İnflamatuvar Belirteçlerin Analizi	35
3.3.1. Örneklerin Toplanması ve Ötenazi	35
3.3.2. Gaita ve Serum Örneklerinde İnflamatuvar Belirteçlerin Analizi	36
3.4. Histopatolojik Analizler	36
3.4.1. Dokuların hazırlanması ve Hematoksilen-Eozin (HE) boyama	36
3.4.2. Masson Trikrom Boyama Metodu	38

3.4.3. Periyodik Asit Schiff (PAS) Metodu	39
3.5. Gaita Örneklerinin Toplanması ve Mikrobiyota Analizi	39
3.5.1. Gaita Örneklerinin Toplanması	39
3.5.2. DNA İzolasyonu	40
3.5.3. Kütüphane Oluşturma ve Gen Dizileme	40
3.5.4. Biyoinformatik Analizler	41
3.6. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1. Vücut Ağırlığı Ölçümü, Yem ve Su Tüketimi	43
4.2. Histopatolojik Bulgular ve İnflamatuvar Parametreler	45
4.3. Mikrobiyota Analizi	54
4.3.1. Mikrobiyal Çeşitlilik Analizleri	54
4.3.2. Relatif Taksonomik Dağılım	59
5. TARTIŞMA	70
5.1. Vücut Ağırlığı, Yem ve Su Tüketimlerinin Değerlendirilmesi	70
5.2. İntestinal Histopatoloji ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi	73
5.3. Mikrobiyota Analizlerinin Değerlendirilmesi	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	88
6.1. Sonuçlar	88
6.2. Öneriler	93
7. KAYNAKLAR	95
8. EKLER	
EK-1: Etik Kurul Onayı	
EK-2: TUBİTAK Proje Kabul Yazısı	
EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADI	Günlük kabul edilebilir alım
AP-1	Aktivatör protein-1
ASV	Amplikon Dizi Varyantları
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CAC	Kodeks Alimentarius Komisyonu
CDED	Crohn hastalığı eliminasyon diyeti
CMC	Karboksi metil selüloz
CREB	Cevap elemanı bağlayıcı protein
CRP	C-reaktif protein
DADA2	Bölücü Amplikon Düzeltme Algoritması-2
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ELISA	Enzim-Bağlı İmmünosorbent Tayini
ESPEN	Avrupa Klinik Beslenme ve Metabolizma Derneği
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FFAR	Spesifik serbest yağ asidi reseptörü
FOS	Fruktooligosakkaritler
GALT	Bağırsakla ilişkili lenfoid doku
GLP-1	Glukagon benzeri peptid-1
GOS	Galaktooligosakkaritler
GPCR	G-proteini kenetli reseptör
GRAS	Genellikle Güvenli Kabul Edilir
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HE	Hematoksilen-Eozin
IL-10	İnterlökin-10
IL-13	İnterlökin-13
IL-22	İnterlökin-22
IL-5	İnterlökin-5
IL-6	İnterlökin-6
INS	International Numbering System
İBH	İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
JECFA	FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi

KZYA	Kısa zincirli yağ asitleri
Lcn-2	Lipokalin-2
LDA	Doğrusal Diskriminant Skoru
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LEfSe	Doğrusal Diskriminant Analizi Etki Büyüklüğü
NFE	Nitrojensiz ekstrakt
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
LPS	Lipopolisakkarit
ÖYP	Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı
P80	Polisorbat 80
PAS	Periodik Asit Schiff
PCoA	Temel koordinat analizi
PD	Polimerizasyon derecesi
PERMANOVA	Permütasyonel çok değişkenli varyans analizi
PPAR-γ	Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör gamma
PRR	Patern tanıma reseptörü
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktörü ebta
Th2	Yardımcı T hücreleri-2
TLR4	Toll benzeri reseptör-4
TMAO	Trimetilamin N-oksit
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
T_{reg}	Regülatör T hücreleri
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Batı tarzı beslenme modeliyle ilişkili disbiyozis ve patolojik sonuçları	10
2.2. Emülgatör ve kıvam artırıcıların potansiyel etki mekanizmaları.	21
2.3. İnülinin mukozal immün sistem üzerine etkisi.	30
3.1. Çalışma sürecinin aşamaları.	33
3.2. İleum ve kolonlarda bilgisayar programı ile villus uzunluk ve kalınlıklarının ölçümü.	38
3.3. PAS pozitif goblet hücrelerinin Image J programı ile işaretlenmesi ve sayımı.	39
4.1. Farelerin haftalara göre vücut ağırlığı değişimleri (g).	44
4.2. Farelerin gruplara göre ortalama yem tüketimleri (g).	45
4.3. Gruplara göre ileumların histopatolojik görünümleri. (A) Kontrol grubunda normal bağırsak histolojisi, (B) CMC grubunda bir farede lümeni genişlemiş villusları kısalmış ileumun görünümü, (C) Lesitin grubunda bir farede ileumda kısalmış ve kütleşmiş villusların görünümü, (D) CMC+inülin grubunda bir farenin villusların uzamış görünümü, (E) Lesitin+inülin grubunda bir farede villusların uzamış görüntüsü, HE, Barlar=200µm.	47
4.4. Gruplara göre ileumların histopatolojik görünümünün büyütülmüş görünümü. CMC ve lesitin gruplarında villuslarda kısalma ve kütleşme (ok başları), HE, Barlar=100µm.	47
4.5. Gruplara göre ileum villuslarının (oklar) büyük büyütmedeki görünümü: (A) Kontrol, (B) CMC grubu, (C) Lesitin grubu, (D) CMC+inülin grubu, (E) Lesitin+ inülin grubu, HE, Barlar=50µm.	48
4.6. Gruplara göre kolonların ve lümenlerindeki bakteri yoğunluğunun histopatolojik görünümü. (A) Kontrol grubunda normal bağırsak florası ve bakteri kümeleri (oklar), (B) CMC grubunda bağırsak lümeninde yoğun şekilde artmış bakteri kümelerinin (oklar) görünümü, (C) Lesitin grubunda bir farenin kolonlarında belirgin şekilde artmış bakteri kümeleri (oklar), (D) CMC+inülin grubunda bakteri yoğunluğunda (oklar) belirgin şekilde azalma, (E) Lesitin+inülin grubunda kolonlardaki bakteri yoğunluğunda önemli ölçüde azalma, HE, Barlar=200µm.	49
4.7. Gruplara göre kolonların ve lümenlerindeki bakteri yoğunluğunun büyütülmüş görünümü, HE, Barlar=100µm.	49
4.8. Kolon mukozası ve lümen içeriğinin yakından görünümü. (A) Kontrol grubunda lümeninde az miktarda bakteri kümeleri, (B) CMC grubunda lümeninde yoğun bakteri kümeleri (kalın ok) ve yoğun	50

- protozoonlar (ince oklar), (C) Lesitin grubunda bakteri kümeleri (kalın ok) ve protozoonlarda yoğun şekilde artış (ince ok), (D) CMC+inülin grubunda bakteri kümelerinde belirgin bir azalma, (E) Lesitin+inülin grubunda bir farenin kolonunda bakteri kümeleri ve protozoonlarda belirgin bir azalma, HE, Barlar=50µm.
- 4.9.** İleumların Masson trikrom boyama görüntüleri, (A) Kontrol grubunda belirgin bağ doku ve kollajen görünümü (ok), (B) CMC grubunda submukozada bağ dokuda incelme (ok), (C) Lesitin grubunda bağ doku ve kollajende incelme (ok), (D) CMC+inülin grubunda bağ doku tabakasında kalınlaşma (ok), (E) Lesitin+inülin grubunda bağ doku tabakasında hafif artış (ok), Barlar=50µm. 51
- 4.10.** Kolonların Masson trikrom boyama ile bağ doku görüntüleri, (A) Kontrol grubunda belirgin bağ doku ve kollajen görünümü (ok), (B) CMC grubunda submukozada bağ dokuda incelme (ok), (C) Lesitin grubunda bağ dokuda belirgin incelme (ok), (D) CMC+inülin grubunda bağ doku tabakasında incelme (ok), (E) Lesitin+inülin grubunda bağ doku tabakasında hafif artış (ok), Barlar=50µm. 51
- 4.11.** Gruplara göre ileumların goblet hücrelerinin PAS boyama görüntüleri. (A) Kontrol grubunda normal görünüm ve sayıda goblet hücreleri (ok), (B) CMC grubunda belirgin şekilde azalmış goblet hücreleri (ok), (C) Lesitin grubunda azalmış goblet hücreleri (ok), (D) CMC+inülin grubunda artmış ve büyümüş goblet hücreleri (oklar), (E) Lesitin+inülin grubunda belirgin şekilde artmış ve büyümüş goblet hücreleri, PAS boyaması, Barlar=50µm. 52
- 4.12.** Grupların kolonlarında goblet hücrelerinin PAS boyama görüntüleri. (A) Kontrol grubunda normal görünüm ve sayıda goblet hücreleri (ok), (B) CMC grubunda belirgin şekilde azalmış goblet hücreleri (ok), (C) Lesitin grubunda azalmış goblet hücreleri (ok), (D) CMC+inülin grubunda artmış ve büyümüş goblet hücreleri (oklar), (E) Lesitin+inülin grubunda belirgin şekilde artmış ve büyümüş goblet hücreleri, PAS boyaması, Barlar=50µm. 53
- 4.13.** Farelerin gruplara göre fekal lipokalin düzeyleri (ng). 54
- 4.14.** Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Faith_pd metrikleri). 55
- 4.15.** Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Gözlenen ASV metrikleri). 55
- 4.16.** Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Shannon indeksi). 56
- 4.17.** Ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümlerini gösteren PCoA grafiği. 57
- 4.18.** Ağırlıklı UniFrac uzaklık ölçümlerini gösteren PCoA grafiği. 57
- 4.19.** Bray-Curtis indeksini gösteren PCoA grafiği. 58
- 4.20.** Grupların fekal mikrobiyota kompozisyonunun filum düzeyinde dağılımı. 59
- 4.21.** Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonunun filum düzeyinde görece sıklık dağılımı (%). 60

- 4.22. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonun familya düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru göreceli sıklık dağılımı (%). 61
- 4.23. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonun cins düzeyinde göreceli sıklık dağılımı (%). 63
- 4.24. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru tanımlanması. 64
- 4.25. Kontrol ve CMC grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. 66
- 4.26. Kontrol ve lesitin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. 67
- 4.27. CMC ve CMC+inülin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. 68
- 4.28. Lesitin ve Lesitin+inülin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. 69

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	Besinlerin inülin ve oligofruktoz içerikleri (g/100g)	27
3.1.	Deney hayvanlarının diyetinin enerji ve makro besin ögesi içerikleri	30
3.2.	Histopatolojik bulguların skorlaması	38
4.1.	Gruplardaki deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, günlük yem, su tüketimleri, besin ögeleri ve emülgatör alımları	44
4.2.	İncelenen histopatolojik ve inflamatuvar parametrelerin sonuçları	46
4.3.	Gruplar arası beta çeşitlilik metriklerinin karşılaştırılması (PERMANOVA)	58
4.4.	Gruplar arasında cins düzeyinde göreceli sıklık (%) dağılımı	62

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Batı tarzı beslenme modeli şeker, doymuş yağ, protein, işlenmiş besinler ve gıda katkı maddelerinden zengin olup; düşük sebze, meyve tüketimi ve düşük posa alımı ile karakterizedir. Bu bileşime sahip beslenme modeli intestinal mikrobiyotanın inflamatuvar yönde değişmesine neden olmaktadır (1). Karbonhidratlar, proteinler ve lipitler gibi makro besin öğelerinin yanı sıra, kıvam artırıcılar ve emülgatörler gibi gıda katkı maddeleri de intestinal geçirgenlikte ve bağırsak mikrobiyotasında değişikliğe neden olabilmektedir (2).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), gastrointestinal kanalda inflamasyona neden olan, ülseratif kolit ve Crohn hastalığını içeren, kronik, heterojen hastalıklardır (3). Son 10 yılda dünya genelinde prevalansının artmasıyla inflamatuvar bağırsak hastalıkları önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (4). Özellikle Crohn hastalığında kronik intestinal inflamasyonun genellikle maksimum bağırsak mikroflora konsantrasyonuna sahip bölge olan terminal ileum ve kolonda görülmesi, intestinal mikrofloranın önemini vurgulamaktadır (5). İnflamatuvar bağırsak hastalığının etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, genellikle disbiyoz olarak adlandırılan mikrobiyota bileşimindeki değişikliklerin, patogeneizde rol oynayan önemli bir faktör olduğu kabul edilmektedir (6).

Emülgatörler, gıdaların lezzetini, dokusunu, stabilitesini ve raf ömrünü uzatmak için gıda işlemede kullanılan, iki veya daha fazla fazın homojen emülsiyonunu oluşturan veya koruyan bir gıda katkı maddesi sınıfıdır (7). Avrupa'da ve Amerika'da yapılan çalışmalarda en çok kullanılan gıda emülgatörlerinin lesitin, yağ asitlerinin mono ve digliseritleri ve selülozlar olduğu bildirilmiştir (8,9). Literatürde özellikle lesitin ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır (10–12).

Yapılan çalışmalarda polisorbitat 80 (P80), CMC ve karragenan gibi gıda emülgatörleri ve kıvam artırıcıların intestinal geçirgenliği artırarak, bakteriyal translokasyonu ve lipopolisakkaritler gibi bakteri metabolitlerinin sistemik dolaşıma geçişini artırdığı, böylece intestinal ve sistemik inflamasyona neden olduğu

bildirilmiştir (13,14). Emülgatörlerin fekal mikrobiyota kompozisyonunu, kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) miktar ve kompozisyonunu değiştirerek inflamatuvar bağırsak hastalıklarından metabolik sendroma kadar çeşitli hastalıkların gelişiminde rol oynayabileceği belirtilmiştir (15,16).

Prebiyotikler, bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilebilen ve sağlık ile ilişkili bağırsak bakterilerinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyaran, sindirilmeyen besin bileşenleridir. İnülin, galaktooligosakkaritler ve fruktooligosakkaritler prebiyotik etki göstererek mikrobiyotayı olumlu yönde etkilemektedir (17). Diyetle emülgatör alımı ile mikrobiyota kompozisyonunun, intestinal bariyer bütünlüğünün değiştiği, mukus tabakasının incelendiği, bağırsak geçirgenliğinin ve inflamatuvar belirteçlerin arttığı bildirilmiştir. Bu etkinin düzeltilmesi için farelere galaktooligosakkarit verildiğinde, bağırsak bariyer fonksiyonunun ve mukus tabakasının kalınlığının düzeldiği ve inflamasyonun azaldığı saptanmıştır (18).

Günümüzde farklı gıda emülgatörlerinin intestinal mikrobiyota üzerine etkilerini gösteren çalışmaların sınırlı olması nedeniyle, daha kapsamlı araştırmaların yürütülmesi gerektiği konusunda güçlü öneriler bulunmaktadır (12,19). Klinik çalışmalarda, bireyler arasındaki yaşam tarzı farklılıkları ve diyet kontrolünün tam olarak sağlanamamasına bağlı olarak belirlenen sonuçlar farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca besin etiketlerinde, kullanılan emülgatörlerin miktarları belirtilmediği için gerçek maruziyet düzeyi hesaplanamamaktadır. Dış etkenlerin elimine edilebilmesi ve belirlenen dozlarda emülgatörlerin diyetle alımı sonucu gözlenebilecek potansiyel zararlı ve inülin alımı sonucu gözlenebilecek yararlı etkilerin mekanizmalarının belirlenebilmesi için deney hayvanları üzerinde yapılan bu konu ile ilgili çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır.

1.2. Amaç ve Varsayımlar

Bu çalışma, farklı gıda emülgatörleri (lesitin ve karboksi metil selüloz) ile birlikte verilen prebiyotiğin (inülin) farelerde intestinal mikrobiyota kompozisyonu ve inflamasyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

Çalışma kapsamında aşağıda belirtilen varsayımlar öngörülmüştür:

1. Gıda emülgatörleri (lesitin ve CMC) verilen ve verilmeyen farelerde intestinal mikrobiyotanın kompozisyonu farklıdır.

2. Gıda emülgatörleri (lesitin ve CMC) verilen ve verilmeyen farelerde inflamatuvar belirteçlerin düzeyi farklıdır.

3. Farklı emülgatörlerin (lesitin ve CMC) bağırsak mikrobiyotası ve inflamasyon belirteçleri üzerine etkileri farklıdır.

4. Farklı emülgatörler ile prebiyotik (inülin) müdahalesi yapılan ve yapılmayan farelerde bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve inflamatuvar belirteçlerin düzeyi farklıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İntestinal Mikrobiyota ve Sağlık

İnsan bağırsağındaki mikrobiyal hücre sayısı yaklaşık 10^{11-12} olup, bu sayı vücuttaki toplam hücre sayısından 10 kat fazladır. Dünya çapında 1000'den fazla farklı tür tanınmakta ve her bir bireyde bu türlerin yüzlercesi bulunmaktadır (20). Bağırsak mikrobiyotası trilyonlarca komensal, simbiyotik ve hatta patojen mikroorganizmayı içeren; bakteri, virüs, mantar ve ökaryotların birlikteliğinden oluşan, kütleli ve çeşitlilik olarak oldukça büyük, hormon benzeri işlev gören mikroorganizmalar topluluğudur (21).

Doğumda steril olan gastrointestinal kanalda bakteriyal kolonizasyon bebeğin doğum kanalından geçişiyle başlamaktadır. Kolonizasyon daha sonra beslenme ve çevresel faktörlerin etkisiyle devam etmektedir. Doğum zamanı, doğum şekli, anne sütü alma durumu, antibiyotik kullanımı ve sanitasyon gibi faktörler kolonizasyonu etkilemektedir. Doğumdan sonra ilk bir yıl mikrobiyota kompozisyonu kısmen daha basit ve daha az çeşitlilikle karakterize olup, relatif baskın filumlar *Proteobacteria* ve *Actinobacteria*'dir. Yaşla birlikte mikrobiyota kompozisyonu daha karmaşık bir hale gelmektedir (22). Genel olarak sağlıklı bağırsakta en çok *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* bakteri grupları bulunmakta olup, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* bağırsak mikrobiyotasının %90'ını oluşturmaktadır (23).

Bazı bağırsak bakterileri antiinflamatuvar özelliğe sahipken bazıları proinflamatuvar özellik taşımaktadır. *Verrucomicrobia* filumuna ait olan *Akkermansia muciniphila* mukus tabakasında yaşamaktadır. Musin üretimini artırarak mukus kalınlığını artırmakta, intestinal bariyer bütünlüğünü iyileştirmekte ve diğer bakterilerle kompleks bir etkileşime girmektedir (24). *A. muciniphila* sağlıklı bireylerde intestinal mikrobiyotanın %3-5'ini oluşturmaktadır. Bu bakteri türünün insülin hassasiyeti ve düşük dereceli inflamasyonun azaltılmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. *A. muciniphila* okludin gibi sıkı bağlanma proteinlerinin ekspresyonunu artırarak bağırsak geçirgenliğini azaltmaktadır. *A. muciniphila* musini temel olarak asetik asit ve propiyonik asite yıkmakta, bu bileşikler ise bağırsakta temel bütirat

üreticisi olan *Faecalibacterium prausnitzii* tarafından substrat olarak kullanılmaktadır (25). *A. muciniphila*'nın hem klinik olarak aktif dönemde hem de remisyon dönemindeki inflamatuvar bağırsak hastalıklarında azaldığı bildirilmiştir (26). Diğer faydalı bakterilerden olan *Bacteroides vulgatus* ve *Bacteroides dorei* sıkı bağlanma proteinlerinin ekspresyonunu ve bakteriyosin üretimini artırarak intestinal bariyere olumlu etkilerde bulunmaktadır. Bakteriyosin, zararlı türlerin kolonizasyonunu önlemekte ve sağlıklı mikrobiyotanın yeniden oluşmasına destek olmaktadır (27).

Kommensal bakterilerin bazı türlerinin ürettikleri KZYA'nin kolonik enerji kaynağı olmaları, enerji metabolizmasını regüle etmeleri ve immünmodülatör etkileri ile proinflamatuvar/antiinflamatuvar dengelyi sağladıkları bildirilmiştir (28). İntestinal olarak en çok üretilen KZYA olan bütirat nükleer transkripsiyon faktörü olan peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör gamma'yı (PPAR- γ) uyararak ve böylece nükleer faktör kappa B (NF- κ B)'yi inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir. KZYA üretimini arttıran türlerin *Lachnospira*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Clostridium* ve *Dorea* olduğu bildirilmiştir (29). Bunlar arasından *Bifidobacterium* intestinal mikrovillus bütünlüğü koruma, antiinflamatuvar sitokin üretimini artırma, immün hücrelerin olgunlaşmasını sağlama, imünoglobülin A sekresyonunu uyarma ve antioksidan özelliklere sahiptir (30). Proinflamatuvar olduğu düşünülen bakteriler daha fazla endotoksin üretmektedir. *Escherichia coli* gibi *Proteobacteria* türlerinin ürettiği gram negatif lipopolisakkaritlerin artışı disbiyozisle ilişkilendirilmiştir (31).

Bağırsak mikrobiyotası, besinlerden enerji elde edilmesi, bazı vitaminlerin sentezi (B, K vitamini) ve ekzojen patojenlere karşı bariyer işlevi sağlanmasından sorumludur. Ayrıca bağırsak bağışıklık sisteminin fonksiyonel olgunlaşması için çok önemli olan bağırsak epitel bariyerinin bütünlüğünün korunmasında rol oynamaktadır (32). Mikrobiyota, patojenlere karşı kolonizasyon direnci sağlayan, hem doğal hem de adaptif immün yanıtı modüle ederek ve vücudu etkileyen metabolitler üreterek konakçı ile yoğun bir etkileşime girmektedir. Bağırsak mikrobiyotasında diyet kaynaklı değişikliklerin lokal ve sistemik inflamasyon üzerine etkisi bulunmaktadır. Bağırsak bariyeri, özellikle bağırsak mikrobiyotası yoluyla bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, sistemik ve

mukozaal bağışıklığı düzenleyerek bağırsak bağışıklık hücrelerinin işlevini ve yanıtını değiştirebilmektedir (33).

Bağırsak mukozaal bariyeri fiziksel, kimyasal, mikrobiyal ve immünolojik bileşenlerden oluşan ana vücut savunma bariyerlerinden biridir. Vücudu bakteri istilasına, yabancı antijen ve toksinlerin dolaşıma geçişine, su ve besin kaybına karşı korumakta, moleküler değişimi ve bağırsak mikrobiyotasının kolonizasyonunu düzenlemektedir. Dolayısıyla bu dengenin bozulması ya da sızdıran bağırsakların oluşması önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır (34).

Fonksiyonel intestinal bariyer, mikrobiyota ve inflamasyonun kontrolü ve intestinal sağlığın sürdürülmesi için oldukça önemlidir. Bağırsak geçirgenliği, besinlerde bulunan veya lüminal mikrobiyota tarafından üretilen endotoksinlerin paraselüler taşınmasına neden olmakta ve sistemik inflamatuvar yanıtı tetikleyebilmektedir. Mikrobiyotanın bileşimindeki değişiklikler bağırsak bariyer fonksiyonunu, endotoksin üretimini ve enerji düzenleyici hormonların sentezini etkileyebilmektedir. Ayrıca bağışıklık sistemi ve mikrobiyota arasında bağırsak sağlığını korumak için mutualist bir ilişki bulunmaktadır (35,36). Bağışıklık sisteminin insan yaşamı boyunca bağırsak mikrobiyotasıyla birlikte evrimleşmesi, hem konakçının hem de mikrobiyotanın karşılıklı yarar sağlayan bir ilişki içinde bir arada var olmasına olanak tanımaktadır. Konakçı ile mikrobiyotası arasında böyle bir dengenin sürdürülememesinin hem bağırsak hem de sistemik sağlık açısından olumsuz sonuçları bulunmaktadır (37).

Mikrobiyotanın bileşimi ve metabolik aktivitesi, genetik konakçı faktörler, diyet bileşimi, yaşam tarzı, özellikle antibiyotikler dahil olmak üzere ilaç kullanımı ve hastalıklar gibi faktörlerden etkilenmektedir. Mikrobiyota bileşiminin ayrıca çevresel (çevre sıcaklığı ve su kaynakları vb.) ve kültürel faktörlerdeki (beslenme durumu, spor, yaşam tarzı ve stres vb.) farklılıklar nedeniyle coğrafi konumdan etkilendiği bildirilmiştir (38). Kültürel farklılıklar özellikle Akdeniz ve Batı ülkelerinin karşılaştırılmasında açıkça görülmektedir. Çevresel ve kültürel faktörlerden en önemli role sahip olan beslenme alışkanlıkları ve diyet modelleridir. Akdeniz diyet modeliyle beslenmenin *Lachnospira* ve *Prevotella* popülasyonunu artırdığı, *Ruminococcus* varlığını azalttığı, bu durumun sağlıkla pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (39).

İnsalık tarihi boyunca insan mikrobiyotasındaki en önemli değişikliklerin iki önemli kırılma noktasından geçtiği düşünülmektedir. Bu kırılma noktalarından ilki avcı-toplayıcı Paleolitik dönemden karbonhidratlardan zengin çiftçi Neolitik döneme geçiş (10.000 yıl önce) ve ikincisi işlenmiş un ve şekerle karakterize bir diyetten zengin sanayi devrinin başladığı dönemdir (yaklaşık 100 yıl önce) (40). Karbonhidrattan zengin bir diyet mikrobiyota kompozisyonunda büyük değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle yüksek posa alımı bakteriyel zenginlikle ilişkili bulunmuştur. Batı tarzı beslenme, tipik olarak yüksek kırmızı et, hayvansal yağ, şeker ve düşük diyet posası içermektedir. Bu beslenme modelinin artmış *Bacteroides* (musin yıkıcı bakteri) ve *Ruminococcus* ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (41). Bağırsak mikrobiyotasındaki spesifik değişikliklerin uzun vadeli beslenme alışkanlıklarıyla güçlü şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. *Bacteroides* ve *Actinobacteria*'nın yaygınlığının, yüksek yağlı diyetle pozitif, diyet posasıyla negatif ilişkili olduğu ve *Firmicutes* ve *Proteobacteria*'nın ise tam tersi bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir. *Bacteroidetes*'in baskın olduğu enterotipin, hayvansal protein ve doymuş yağ alımıyla güçlü ilişkili olması, Batı ülkelerinde bu türün yaygınlığını düşündürmektedir. Buna karşılık, *Prevotella*'nın hakim olduğu enterotip, yüksek miktarda karbonhidrat alımı ve basit şeker tüketimiyle ilişkilidir. Bu da, tarım toplumları ve vejetaryenler için daha tipik olan karbonhidrat bazlı bir diyetle ilişkili bulunmuştur (42,43). Yapılan bir çalışmada, fekal mikrobiyotası *Prevotella* açısından zengin olan bireylerin daha fazla posa; *Bacteroides* içeriği yüksek olanların ise daha fazla protein ve yağ alma eğiliminde olduğu ve mikrobiyota kompozisyonu üzerinde güçlü bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (44).

Konak kaynaklı birçok fizyolojik faktörün modüle edilmesi zor olsa da mikrobiyom, diyet gibi çevresel faktörler tarafından daha kolay şekillendirilebilmekte ve sindirim, besin öğelerinin emilimi, mukozal immün yanıtın modüle edilmesi, potansiyel biyoaktif bileşiklerin sentezi ve modülasyonuna katılmaktadır. Bu nedenle, diyetle indüklenen mikrobiyota değişiklikleri, hastalık gelişimi ve ilerlemesi dahil olmak üzere konakçı fizyolojisinde önemli sonuçlara neden olmaktadır. Konakçının diyeti, belirli türlerin modülasyonu ve bunların bireysel veya toplu fonksiyonlarını etkileyerek mikrobiyota konfigürasyonunda temel belirleyici rol oynamaktadır (45).

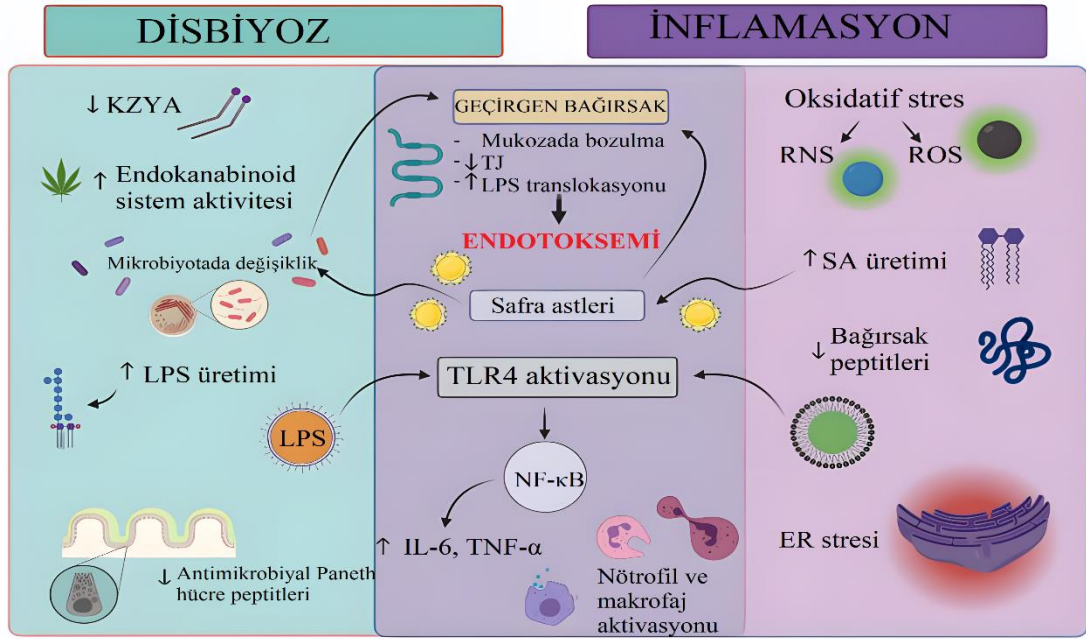
Diyetle alınan yağ, karbonhidrat ve protein gibi makro besin ögeleri mikrobiyotada önemli değişikliklere neden olmaktadır. Diyetle yüksek doymuş yağ, hayvansal kaynaklı protein ve düşük posa alımı mikrobiyotada inflamatuvar yönde bozulmalara neden olmaktadır. Diyet posası mikrobiyal ekolojiyi etkilemektedir (46). Sindirilmeyen karbonhidratların alımı *Firmicutes* ailesinde önemli artışa neden olmakta, aksine diyet fermente edilebilir karbonhidratları düşük miktarda içerdiğinde bütirat üreten *Firmicutes* ailesinde ve fekal bütirat seviyesinde önemli azalmalar oluşmaktadır (47).

Bağırsak mikrobiyal ekosisteminin bozulmasının nedenlerinden biri, bağırsak mikrobiyotası için mevcut besinsel karbonhidratların azalmasına neden olan düşük posalı diyettir. Bu tür disbiyoz, prebiyotik tüketilmesiyle normale döndürülebilmekte ve dolayısıyla konakçıya doğrudan ve dolaylı olarak olumlu sağlık sonucu yaratabilmektedir (48). Prebiyotikler, hem direkt olarak mikrofloranın miktarında ve kompozisyonunda değişikliğe neden olabilmekte, hem de fermentasyon sonucu oluşan metabolitler bağırsak ilişkili lenfoid dokuyu etkileyebilmektedir (49). Gastrointestinal mikrobiyota posa ve prebiyotik alımından etkilenmekte, ancak bu etki bireysel farklılıklar göstermektedir. Mikrobiyal yanıt, başlangıçtaki mikrobiyota çeşitliliği ile ilişkilidir. Diyet modifikasyonuna yanıt vermeyenlerin uygulanan doz ve/veya eklenen posayı fermente edecek bakterilerinin olmamasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Bireysel mikrobiyota kompozisyonunun ve yapıtaşları olan türlerin posanın fermentasyonunu etkilediği belirtilmiştir (17).

Konakçı mikrobiyotasının proinflamatuvar patojenler yönünde değişmesi, mukozal immün sistemin uyarılmasına ve mikrobiyota ile konakçı arasındaki simbiyotik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Mikrobiyota kompozisyonundaki ve fonksiyonundaki istenmeyen bu değişiklikler 'disbiyoz' olarak bilinmektedir (50). Lipopolisakkaritler (LPS'ler), gram negatif bakteriler tarafından üretilen bakteriyel yüzey glikolipitleridir. LPS'nin ana işlevi yapısal olup ve bakteriler için antibiyotikler gibi toksik maddelere karşı bir bariyer işlevi bulunmaktadır. Bağışıklık sisteminin karşılaştığı ilk bakteriyel bileşenlerden biri olduğu göz önüne alındığında, bağışıklık sisteminin uyarılmasında da önemli bir rol oynamaktadır (51). LPS akut ve düşük düzey kronik inflamasyonu tetikleyebilmektedir. Akut inflamasyonda başlatıcı etken

mikrobiyal bir enfeksiyon iken kronik durumda, LPS'nin kaynağı genellikle bağırsak mikrobiyotası ve gıdada bulunan LPS tarafından desteklenen endojen üretimdeki artıştır. Bağırsak epiteli, LPS'nin emilimini önleyen etkili bir bariyerdir. Diyet değişikliklerine yanıt olarak bağırsak epitelinde oluşan yapısal değişiklikler, LPS'nin kan dolaşımına girmesine, ve böylece LPS'nin plazma seviyelerindeki artışla (metabolik endotoksemiye) neden olmaktadır (52). Bağırsak mikrobiyotası ve bağırsakla ilişkili lenfoid doku (GALT), LPS'den etkilenmekte ve metabolizmayı inflamatuvar yönde değiştirmektedir. LPS, mikrobiyota çeşitliliğinin azalmasına, GALT regülatör T hücrelerinin (T_{regs}) lenfosit sayısının azalmasına, Th17 ve Th1 lenfositlerinde artışa neden olmaktadır. Ayrıca, doğuştan gelen bağışıklık sistemi, Toll benzeri reseptör-4 (TLR-4)'ün aktivasyonu yoluyla tetiklenirken, epitel doğrudan hasar görmekte ve inflamasyonu daha da şiddetlendirmektedir (53). Bu etkileşimin temel bileşeni en NF- κ B'yi tetikleyen TLR-4'tür. NF- κ B, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve IL-12'nin aracılık ettiği çeşitli inflamatuvar yanıtların başlatılmasında çok önemlidir. Ayrıca LPS ile TLR4 arasındaki etkileşim de IFN- β salınımını tetiklemekte, tüm bu etkileşimler inflamatuvar CD4 alt tiplerinin (özellikle Th1 ve Th17) farklılaşmasını uyarmaktadır (54).

Bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun kantitatif ve/veya kalitatif değişikliği, fonksiyonel bağırsak hastalıkları, intestinal enfeksiyöz hastalıklar, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, karaciğer hastalıkları, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, alerjik hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bağırsak mikrobiyotası ile ilişkili birçok hastalığın gelişmesine neden olmaktadır (55). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, "sızdıran bağırsak" olarak adlandırılan bağırsak geçirgenliğindeki değişiklikler, bu hastalıktaki endotokseminin varlığını açıklarken, LPS aynı zamanda patogeneizde yer alan farklı inflamatuvar yolların tetikleyicisidir. İBH ile ilişkili disbiyoz, LPS üretiminin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. LPS ile İBH arasındaki etkileşimin tek yönlü olmadığı bildirilmiştir. İBH, sızdıran bağırsak ve endotoksemiye teşvik ederken, LPS, İBH'de çok önemli olan inflamasyonu teşvik etmektedir (56). Batı tarzı beslenme modeli gibi sağlığa olumsuz etkileri olan diyetlerin mikrobiyota kompozisyonunu değiştirerek LPS üretimini artırabileceği bildirilmiştir (57). Batı tarzı beslenme modeliyle ilişkili disbiyozis ve patolojik sonuçları **Şekil 2.1**'de gösterilmiştir (32).



Şekil 2.1. Batı tarzı beslenme modeliyle ilişkili disbiyozis ve patolojik sonuçları (32). **KZYA:** Kısa zincirli yağ asitleri, **LPS:** Lipopolisakkarit, **TJ:** Sıkı bağlantılar, **TLR-4:** Toll benzeri reseptör-4, **NF-κB:** Nükleer faktör kappa-B, **IL-6:** İnterlökin-6, **TNF-α:** Tümör nekroz faktörü-alfa, **RNS:** Reaktif nitrojen türleri, **ROS:** Reaktif oksijen türleri, **ER:** Endoplazmik retikulum, **DYA:** Doymuş yağ asitleri, **SA:** Safra asitleri

2.2. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, bireylerin bozulmuş yaşam kalitesi ve artan sosyo-ekonomik yük ile ilişkili, sık görülen inflamatuvar hastalıklardan biridir. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olmak üzere iki türü bulunan inflamatuvar bağırsak hastalıkları abdominal ağrı, ishal ve kanlı dışkı ile karakterizedir (58). Crohn hastalığı, ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal sistemi etkileyebilmekteyken (çoğunlukla terminal ileum veya perianal bölge), ülseratif kolit çoğunlukla kolonik mukozayı (rektum ve kolon) etkilemektedir (59).

Batı toplumlarında Crohn hastalığının tanısında %27-42 ileal bölgenin, %28-35 kolonun ve %23-33 ileokolonik bölgenin etkilendiği bildirilmiştir (60). Asya'da ise durumun batıdan farklı olduğu, tanıda hastaların %50-61'inde ileokolonik tutulum olduğu, hastalığın tanısının batıya göre daha komplike olduğu belirtilmiştir (61). Ülseratif kolite bakıldığında Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da Asya ile

benzer şekilde hastaların %23-34'ünün proktit (sadece rektum ve anüste inflamasyon) ile seyrettiği, %34-51'inde sol taraflı kolit görüldüğü bildirilmiştir (62).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının etiyolojisinin henüz tam olarak kesinleşmediği ancak genetik olarak yatkın kişilerde, bağışıklık sisteminin, mikrobiyomun ve çevresel etmenlerin birlikte rol oynadığı bildirilmiştir (63). Sigara, beslenme, ilaç, coğrafya, sosyal stres ve psikolojik etmenler gibi çevresel etmenlerin İBH patogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir (64). Ekolojik ve epidemiyolojik kanıtlar çevre kirliliğinin de patogeneze rolü olabileceğini bildirmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde artan İBH prevalansının endüstrileşme ile paralel olduğu belirtilmiştir (61).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının patogenezinde iki yaklaşım öne sürülmektedir. Bunlardan ilki; mukoza sisteminin bozulması ve mikrobiyotadaki immünolojik yanıtın artmasıdır. İkincisi ise bağırsak florasındaki herhangi bir değişiklik veya epitel fonksiyonunun bozulmasının, normal mukoza sistemindeki mukozayı uyarmasıdır (65). İlk inflamasyon atağını ve ardından nüksetmeyi tetikleyen kesin faktörler bilinmemekle birlikte; inflamatuvar epizotların, genetik olarak yatkın kişilerde, çeşitli çevresel koşullar altında bağırsak mikrobiyal antijenlerine karşı anormal ve sürekli bir bağışıklık tepkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Doğuştan ve adaptif bağışıklığın her ikisinin birlikte İBH patogenezinde intestinal inflamatuvar yanıtta önemli rolü olduğu bildirilmiştir (64). İBH ile ilişkili çeşitli duyarlı genlerin, konakçının bağırsak bakterilerine verdiği yanıtla ilişkili olması, bağırsak mikrobiyotasının da İBH patogenezinde katıldığını düşündürmektedir (66).

Bağırsak mikrobiyotası yaşamın ilk iki haftasında oluşmakta ve daha sonraki süreçte genellikle stabil kalmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının yalnızca %20-30'unu değiştirmek mümkün olmasına rağmen, mikrobiyotadaki değişiklikler ile İBH arasında önemli ilişki bulunmuştur (67). İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, mikrobiyal çeşitliliğin azalması, yararlı bakterilerin kaybı ve patojen bakterilerin artmasıyla karakterize olan disbiyozis ile ilişkili hastalıklar arasında en sık görülendir (68). Ülseratif kolit ve Crohn hastalığına sahip bireylerin mikrobiyal kompozisyonunun hem birbirlerinden hem de sağlıklı bireylerden farklı olduğu ayrıca bakteriyel çeşitliliğin sağlıklı bireylerden daha düşük olduğu bildirmiştir (69).

Sağlıklı intestinal mikroflorada *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumları baskındır ve bu mikroflora epitelden metabolik substratların üretimine katkıda bulunur. İBH hastalarında ise mikrobiyota çeşitliliğinin, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *A. muciniphila* görece yoğunluğunun azaldığı, *Proteobacteria* varlığının arttığı bildirilmiştir (70). *F. prausnitzii* bağırsakta en çok bulunan bakterilerden biri olup, varlığının sağlığı olumlu etkilediği bildirilmiştir. Sağlığa olumlu etkileri antiinflamatuvar ve immünregülatör özelliğinden kaynaklanmaktadır. Ürettiği bütirat antiinflamatuvar özellik göstermektedir. Crohn ve ülseratif kolitli hastalarda *F. Prausnitzii* varlığının azaldığı bildirilmiştir. *Roseburia* spp. gibi diğer bütirat üreten bakteri türlerinin de İBH'ye genetik yakınlığı olan hastalarda azalmış olduğu gösterilmiştir. Patojenik bakterilere bakıldığında *E. coli*'nin İBH patogenezinde katıldığı gösterilmiştir (71,72). Sindirim kanalında kolonik mukozaya yapışabilen patojenik bakterilerin artması, bağırsak geçirgenliğini, intestinal mikrobiyota çeşitliliğini ve bileşimini değiştirebilmekte ve sonuçta inflamatuvar genlerin ekspresyonunu düzenleyerek intestinal inflamasyona neden olmaktadır. Disbiyozis ayrıca bakteriyal metabolitleri değiştirmekte, KZYA üretimini azaltmakta ve böylece intestinal inflamasyona katkıda bulunmaktadır (73).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, bozulmuş mukus tabakası, luminal bakterilerin submukozal tabakalara nüfuz etmesine ve istila etmesine izin vererek proliferatif ve inflamatuvar süreçlere yol açmaktadır. İnflamatuvar hasara bağlı mukozal hasar, submukozayı daha fazla bakteriye maruz bırakmakta, bu da antijenik maruz kalma ve mukozal hasardan oluşan kısır, pozitif bir geri bildirim döngüsüne neden olmaktadır (74).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarından ülseratif kolitin Avrupa'da 2,6 milyon kişiyi, Kuzey Amerika'da ise 1,2 milyon kişiyi etkilediği bildirilmiştir. Bu vakaların yaklaşık %25'inin 18 yaşından önce tanı aldığı belirtilmiştir. Küresel olarak İBH insidansının son 20 yılda arttığı, İBH'nin ilerleyici süreci ve tedavi maliyetlerindeki artış nedeniyle yüksek bir ekonomik yüke neden olduğu bildirilmiştir (62). Genel olarak İBH, batı dünyasının bir hastalığı olarak kabul edilmektedir. Ancak son on yıldan elde edilen veriler, Çin ve Hindistan dahil olmak üzere Asya'daki yeni sanayileşmiş ülkelerde insidansın arttığını göstermektedir. Bu artışın nedeni tam

olarak anlaşılammamış olsa da, beslenme modelindeki batılılaşmanın önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (4).

Doğu ülkelerinde artan prevalansın endüstrileşme ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Küresel çapta hastalığın prevalansında doğu-batı arasında görülen farklılığın gün geçtikçe benzer duruma gelmesinde sigara, antibiyotik kullanımı, anne sütü alımı, beslenme, fiziksel aktivite ve çevresel hijyenin etkili olduğu gösterilmiştir (75). Bu faktörler arasında İBH gelişimini en çok etkileyen faktörün Batı tarzı beslenmenin artışı olduğu düşünülmektedir. Batı tarzı beslenme modeli işlenmiş et ürünleri, hayvansal yağlar, rafine tahıllar, yağlı süt ürünleri ve işlenmiş gıdaların fazla; sebze, meyve ve tam tahılın düşük tüketiminin sonucu olarak yüksek düzeyde yağ, basit şeker, doymuş yağ, gıda katkı maddeleri ve düşük düzeyde posa, vitamin ve mineral alımıyla karakterizedir (32). Batı tarzı beslenme modeli mikrobiyota çeşitliliğinde azalma, *Bacteroides* ve *Enterobacteriaceae*'de artış, *Firmicutes*'te azalma ile ilişkili bulunmuştur (76). Sanayileşmemiş bölgelerdeki diyetin daha yüksek KZYA ve daha düşük *Enterobacteriaceae* (*Shigella* ve *Escherichia*) varlığına neden olduğu bildirilmiştir (77).

Batı tarzı beslenmede yüksek yağ alımı kadar, yüksek ultra işlenmiş besin tüketimi ile birlikte gıda katkı maddeleri alımının intestinal inflamasyonla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (78). Roberts ve ark. (79) Crohn hastalığı insidansı ile diyetle emülgatör alımı arasında yağ miktarından bağımsız güçlü pozitif korelasyon olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gelişimiyle emülgatör içerme olasılığı yüksek olan fast-food besinlerin tüketiminin pozitif ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Beslenmenin İBH patogenezindeki rolüne ilişkin iki hipotez ileri sürülmüştür. Bunlardan ilki beslenmenin mikrobiyotayı direkt olarak etkilemesidir. İkincisi ise diyetsel antijenlerin immün yanıtı başlatması ve bağırsaktaki mikroorganizmaların ürettiği metabolitleri değiştirmesi ve böylece mukus tabakasını ve immün yanıtı değiştirmesidir (1). Avrupa Crohn ve Kolit Organizasyonu, Crohn ile ilişkili olabilecek beslenme bileşenlerinin yüksek şekerli, yüksek yağlı veya yüksek hayvansal yağlı diyetler ile gluten, titanyum dioksit, emülgatörler, maltodekstrin ve

luminal demir olduğunu belirtmiş, emülgatörlerin inflamatuvar bağırsak hastalıkları üzerine etkisine ilişkin literatürün sınırlı olduğunu bildirmiştir (80).

Avrupa Klinik Beslenme ve Metabolizma Derneği (ESPEN), inflamatuvar bağırsak hastalıklarında beslenme tedavisine yönelik kılavuzunu 2023 yılında güncelleyerek İBH tedavisinde yeni bir görüş olarak mikrobiyota modülasyonuna yönelik bir bölüm eklemiştir. Düşük posa alımının, ultra işlenmiş besin tüketiminin ve bununla birlikte CMC gibi emülgatörlerin alımının İBH için risk olduğunu, bu besinlerin diyetten çıkarılmasının önerilebileceğini belirtmiştir (81). Yapılan güncel prospektif kohort çalışmalarında ultra işlenmiş besin tüketiminin hem sıklığının hem de enerjiye katkısının yüksek olmasının İBH gelişimi için risk faktörü olduğu bildirmiştir (82,83).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde kılavuzlarda önerilen spesifik bir beslenme yaklaşımı bulunmamasına rağmen, hastaların yaklaşık %70'i diyetin hastalık durumunu etkilediğini, %60'ı diyetin relaps başlatmakta etkili temel faktör olduğunu, %16'sı ise diyetin hastalığı başlatabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir (1). Yapılan bir çalışmada İBH'li hastaların hastalık başlangıcında ve semptomların şiddetlenmesinde diyetin etkili olduğunu düşündükleri bildirilmiştir. Bu hastalar, beslenme konusunda oldukça ilgili ve bilgi alma konusunda istekli olmalarına rağmen verilen bilgilerin yeterli olmadığını ve yaklaşık yarısı hiç beslenme tavsiyesi almadığını belirtmiştir (84).

Crohn hastalığı eliminasyon diyeti (CDED); hayvansal yağları, gluten içeren tahılları, gıda emülgatörlerini içermezken; dirençli nişasta, sebze ve meyveden zengindir. Bu diyetle intestinal immüniteye, intestinal bariyere ve mikrobiyotaya olumsuz etkisi olan besinler diyetten çıkarılmıştır. Eliminasyon diyet tedavisinin hem çocuklarda hem yetişkinlerde remisyonun sağlanması ve inflamasyonun azaltılmasında umut verici olabileceği düşünülmektedir (85).

Yapılan bir çalışmada 20 Crohn hastasının emülgatör alımı değerlendirilmiş ve bunların %75'inin her gün emülgatör içeren bir besin tükettiği, bu besinlerin ise tahıl ve tahıl ürünleri, şekerlemeler, çikolatalar, süt ve süt ürünleri, protein bar ve beslenme destekleri olduğu bildirilmiştir. Bu besinlerde en çok bulunan emülgatörlerin ksantan

gam, pektin, yağ asitlerinin mono- ve digliseritleri, lesitin ve mono- ve digliseritlerin diaçil tartarik asit esterleri olduğu belirtilmiştir. Bu hastalara 14 gün boyunca gıda emülgatörlerini içermeyen bir diyet uygulanmış ve emülgatör içeren besin tüketim sıklıkları %94,6 oranında azalmıştır. Bu diyetle besin ilişkili yaşam kalite skorlarının arttığı, hastalık kontrol skorunun iyileştiği, hastalık ilişkili semptomların azaldığı, ancak fekal kalprotektin seviyesi ile hastalık aktivite skorunun değişmediği bildirilmiştir (12). En az bir aydır klinik remisyonda olan ülseratif kolitli hastalar ile yapılan başka bir çalışmada hastalar önce karragenan içermeyen diyet tüketmişleridir. Daha sonra hastalar karragenan kapsül (200mg) veya plasebo kapsül tüketilen iki gruba ayrıldığında, plasebo tüketen grupta relaps görülmediği ancak karragenan tüketen hastaların %60'ında relaps görüldüğü, ayrıca başlangıca göre interlökin-6 (IL-6) ve fekal kalprotektin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (86).

Yapılan başka bir çalışmada hafif-orta derece aktif Crohn hastası çocukların yarısı CDED ve kısmî enteral beslenme (enerjinin %50'si), diğer yarısı tam enteral beslenmiştir. Eliminasyon diyeti uygulayan grupta diyet toleransının, remisyon sıklığının, normal C-reaktif protein (CRP) seviyesi ile kortikosteroid olmadan remisyonun sürdürülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (85). Hafif-orta aktif Crohn hastası çocuk ve genç yetişkinlerde yapılan benzer bir çalışmada, CDED'in yalnız veya kısmî enteral beslenme ile birlikte uygulandığında hem yetişkinlerde (%69) hem de çocuklarda (%70) remisyon sağladığı, serum CRP ve ESR seviyesini ve hastalık aktivite skorunu azalttığı belirlenmiştir (87).

Crohn hastası 44 yetişkin ile yapılan bir çalışmada 6 haftada CDED ve kısmî enteral beslenme ile %68, yalnız CDED ile %57 remisyon sağlandığı, 24. haftada hastaların %35'inde ise endoskopik remisyon sağlandığı bildirilmiştir (88). Benzer çalışmalarda Crohn hastalarında CDED diyetinin yalnız veya kısmî enteral beslenme ile birlikte uygulanmasının remisyon sağlayabileceği belirtilmiştir. Bu sonuçlar, diyetle elimine edilen bileşenlerden biri olması nedeniyle emülgatörlerin inflamasyon üzerine etkilerini doğruladığı belirlenmiştir (89,90).

Uluslararası İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Araştırmaları Örgütü kıvam artırıcı ve emülgatörleri içeren işlenmiş besinlerin tüketimini sınırlamanın İBH'de koruyucu olabileceğini bildirmiştir (91). ESPEN de Crohn hastalığı eliminasyon

diyetinin kısmî enteral beslenme ile birlikte uygulanmasının hafif-orta derece aktif pediatrik hastalarda, total enteral beslenmeye alternatif olabileceğini, hafif-orta aktif yetişkin hastalarda ise enteral beslenme ile veya enteral beslenme olmadan CEDED'in uygulanabileceğini bildirmiştir. Remisyon dönemindeki hastalarda sağlıklı beslenme modellerinin uygulanması ve bireysel beslenme ilişkili tetikleyicilerin diyetten çıkarılması gerektiği belirtilmiştir (92).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçların bazı hastalarda tam bir remisyon sağlayamaması ve bazı ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle ilaç tedavilerini destekleyici tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu destekleyici tedavilerden en önemlisi beslenme tedavisidir (65). Mikrobiyotayı olumsuz yönde etkileyen diyet bileşenlerinin diyetten çıkarılmasının, ayrıca probiyotik, prebiyotik veya sinbiyotik kullanımının mikrobiyotayı olumlu yönde etkileyerek hastalığın şiddetini azaltabileceği ve remisyon sağlayabileceği bildirilmiştir (39).

2.3. Gıda Katkı Maddeleri

Günümüzde Batı tarzı yaşam biçiminin benimsenmesi ile işlenmiş besinlerin tüketiminde artış görülmektedir (93). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), tüm besinleri geçirdikleri endüstriyel süreçlerin doğasına, kapsamına ve amaçlarına göre; işlenmemiş veya minimal işlenmiş besinler (sebzeler, meyveler, yumurta, süt vb.), işlenmiş mutfak bileşenleri (tereyağ, şeker, tuz vb.), işlenmiş besinler (konserve sebzeler, meyve şurupları vb.) ve ultra işlenmiş besinler (şekerli/gazlı içecekler, dondurma, tüketime hazır paketli besinler, fast-food besinler vb.) olmak üzere 4 kategoriye ayırmaktadır (94).

Ultra işlenmiş besinler, besinlerden ekstrakte edilen veya rafine edilen işlenmiş maddelerden yapılmış endüstriyel formülasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Bu besinlerin enerji yoğunluğu, glisemik yükü, yağ içeriği, serbest şeker ve sodyum içeriğinin yüksek; diyet posası, mikro besin öğeleri ve fitokimyasal içeriğinin düşük olduğu bildirilmiştir. Bu besinlerin yoğun lezzetlerinin yüksek yağ, tuz ve diğer katkı maddeleri içeriğinden kaynaklandığı belirtilmiştir (95).

Ultra işlenmiş besinlerin tüketimindeki kolaylık, çekicilik ve pazarlama politikaları nedeniyle, özellikle beslenme modelinde taze besin bulunmayan yüksek gelirli ülkelerde bu besinler diyet enerjisinin yarısından daha fazlasını oluşturmaktadır (96,97). Beslenme kültürlerinde taze hazırlanmış yemekler bulunan ülkeler de dahil olmak üzere orta gelirli ülkelerdeki ultra işlenmiş besinlerin satışları çok hızlı artış göstermektedir (98). Ultra işlenmiş besinlerin üretiminde duyuşal özellikleri iyileştirmek, tüketimi artırmak ve raf ömrünü uzatmak gibi nedenlerle gıda katkı maddeleri kullanılmakta, bu maddeler gıda etiketlerinde belirtilmektedir (94).

Türk Gıda Kodeksi gıda katkı maddelerini ‘‘Besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeler’’ olarak tanımlamıştır. Gıda katkı maddeleri; tatlandırıcılar, renklendiriciler, koruyucular, antioksidanlar, emülgatörler, emülsifiye edici tuzlar ve kıvam artırıcıların da dahil olduğu 27 fonksiyonel sınıfa ayrılmıştır (99). En yaygın kullanılan gıda katkı maddeleri tatlandırıcılar, renklendiriciler, emülgatörler ve kıvam artırıcılarıdır. En çok gıda katkı maddesi kullanılan besinlerin ise yapay tatlandırıcılı içecekler, dondurma, bisküvi ve krakerler, sütlü tatlılar, atıştırmaklıklar, çikolatalar ve soslar gibi besinler olduğu bildirilmiştir (100).

FAO ve WHO tarafından oluşturulmuş olan Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC), gıda katkı maddeleri için küresel olarak uyumlu bir numaralandırma sistemi sağlamak amacıyla Uluslararası Numaralandırma Sistemi'nin (International Numbering System-INS) kullanımını önermektedir. Mevcut INS listesi 100-1522 numaralı katkı maddelerini içermektedir. Avrupa Birliği'nde INS numaralarının önüne "E" harfi eklenmekte (E kodu) ve katkı maddeleri ambalaj üzerinde bu şekilde etiketlenmektedir (101).

Besin sanayisinde, gıda ürünlerinin renk, tat, koku, besin değeri ve raf ömrünü iyileştirmek için kullanılan gıda katkı maddelerinin alımı Batı tarzı beslenmenin en önemli bileşenlerinden biri olan ultra işlenmiş besin tüketimiyle artmaktadır. Gıda

katkı maddelerinden özellikle yapay tatlandırıcılar ve emülgatörlerin bağırsak mikrobiyotasını değiştirdiği ve hastalıklarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (102).

2.3.1. Gıda Emülgatörleri

Gıda emülgatörleri, bir gıda maddesinde, yağ ve su gibi birbiri ile karışmayan iki veya daha fazla fazın homojen bir karışım oluşturmasını veya oluşan homojen karışımın sürekliliğini sağlayan maddelerdir (99). Emülgatörler gıda sanayisinde emülsiyonların stabilizörü olarak, depolama sırasında ayrışmayı önleyerek raf ömrünü uzatma amacıyla ve jelatinin vejetaryen alternatifi jelleştirici ajan olarak işlenmiş besinlerde kullanılmaktadır. Emülgatörler ayrıca gıdanın görünüş, doku ve ağızda kalan his gibi organoleptik özelliklerini iyileştirmektedir (19).

Emülgatörler, amfifilik biyopolimerler, düşük molekül ağırlıklı emülgatörler (sürfaktanlar) ve katı parçacıklar olarak üç kategoriye ayrılmaktadır. Sürfaktanlar, sentetik veya doğal formda olabilirler. Sentetik surfaktanlar; mono ve digliseritler, sükroz esterler ve sorbitan esterleri iken lesitin doğal surfaktandır. Amfifilik biyopolimerler ise emülsiyon stabilizörleridir. Başta proteinler (whey, kazein) ve polisakkaritler (gam arabik, modifiye nişasta, pektin vb.) olmak üzere farklı türde suda çözünür molekülleri içermektedir (103). Emülgatör terimi genellikle kıvam artırıcıları da içermektedir. Karragenan, pektin, karboksimetil selüloz, guar gam, gam arabik, modifiye nişasta ve aljinik asit hem kıvam artırıcı hem de emülgatör olarak kullanılmaktadır (8).

Emülgatörler hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımlara sahip olmaları nedeniyle yağ ve su fazları arasındaki arayüzey gerilimini azaltarak emülsiyon içindeki asılı damlacıkların kremleşmesini, çökmesini, topaklaşmasını ve ayrışmasını önlemektedir. Farklı kimyasal yapılara sahip çok sayıda emülgatör gıda katkı maddesi bulunmaktadır (7). Emülgatörler ve kıvam artırıcılar gibi bileşikler kimyasal özelliklerine göre farklı şekilde metabolize olmaktadır. Kıvam artırıcı ve jelleştirici ajanlar, çoğunlukla nişasta olmayan polisakkaritler olup, sindirilmeden kolona ulaşır, fermente olabilmektedir. Sürfaktanların tamamı yağ asiti non-polar kısım ve hidrofilik baş kısmı içermektedir. Fosfatidilkolin (lesitin), intestinal hidrolizden sonra intakt veya lizofosfatidilkolin veya kolin olarak absorbe edilmektedir. Lesitin bir kısmı

koline hidrolize olmakta ve bağırsak bakterileri tarafından metabolize edilerek trimetilamine dönüşmektedir. Amfifilik biyopolimerler ise proteolitik enzimlerle sindirilip emilmektedir (104).

Farklı otoritelerin emülgatörlere yönelik farklı sınıflamaları olsa da CAC, 261 katkı maddesinin “emülgatör” veya “emülsifiye edici tuzlar” fonksiyonel sınıfına girdiğini bildirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ise 171 katkı maddesini “emülgatör” veya “emülsifiye edici tuzlar” olarak sınıflandırmıştır. Her iki otorite için de kabul edilen bazı emülgatörler; lesitin (E322), aljinik asit (E400), karragenan (E407), guar gam (E412), gam arabik (E414), ksantan gam (E415), selülozlar (E460-E469), sodyum karboksimetül selüloz (CMC) (E466), yağ asitlerinin tuzları (E470), yağ asitlerinin mono ve digliseritleri (E471)’dir (105,106).

Avrupa’da en çok kullanılan gıda emülgatörleri ve kıvam artırıcıların yağ asitlerinin mono ve digliseritleri (MDGs), lesitin, ksantan gam, guar gam, karragenan ve selülozlar olduğu belirtilmiştir. Emülgatörlerin en çok çikolata, margarin, dondurma, mayonez, şekerlemeler, dondurulmuş tatlılar, aromalı sütler, krema ve soğuk kahve gibi gıdalarda kullanıldığı bildirilmiştir (8).

Lesitinler (E322), hayvansal veya bitkisel gıdalardan fiziksel prosedürlerle elde edilen fosfolipid karışımları veya fraksiyonları olarak tanımlanmaktadır. Soya lesitini fosfotidil kolin (%20-30), fosfotidil etanolamin (%20-30) ve fosfotidil inositol (%20) gibi farklı miktarlarda fosfolipid içermektedir (107). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından birçok besinde “quantim satis” düzeyinde kullanılmasına izin verilmiş, ancak bebek ve çocuk ürünlerinde kullanımlarında farklı üst limitler belirtilmiştir (108). Quantim satis (belirlenmemiş miktar); katkı maddelerinin kullanımına ilişkin olarak herhangi bir maksimum miktarın belirlenmediğini ve bu maddelerin; iyi üretim uygulamalarına göre, hedeflenen amacı sağlamak için gerekli olan miktardan daha yüksek olmayan miktarda ve tüketiciyi yanıltmayacak şekilde kullanılması gerektiğini ifade etmektedir (99). FDA, soya lesitinin GRAS (Genellikle Güvenli Kabul Edilir) sınıfında olduğunu kabul etmektedir (105). FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA) tarafından, lesitin için günlük kabul edilebilir alım (ADI) değeri “sınırsız” olarak bildirilmiştir (109).

Lesitinin; güvenli, hatta sağlık açısından olumlu etkilerinin olduğu belirtilse de, bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri henüz ayrıntılı araştırılmamıştır (108).

Sodyum karboksi metil selüloz (CMC-E466), selülozun karboksimetil eterinin kısmi sodyum tuzudur. Karboksimetil selülozun ince bağırsaktan emilmediği ve kolon bakterileri tarafından kısmen fermente edildiği bildirilmiştir (104). FDA, CMC'nin GRAS sınıfında olduğunu kabul etmektedir (105). JECFA tarafından CMC için ADI değeri belirtilmemiştir (109). EFSA tarafından birçok besinde “quantum satis” düzeyinde kullanılmasına izin verilmiştir. Gıda sanayisinde hangi dozda kullanıldığına dair bir bilgi olmamakla birlikte en çok kullanıldığı gıdalar; işlenmiş fermente süt ürünleri, peynirler, balık ve balık ürünleri ve kahvaltılık tahıllardır (110). Uzman komiteler bu gıda katkı maddelerinin toksisite ve karsinojenitelerini geniş çapta yapılan çalışmalarda incelemiş, ancak intestinal sağlık üzerine etkilerini saptamaya yönelik uzun süreli çalışmalar yapılmamıştır (108,110).

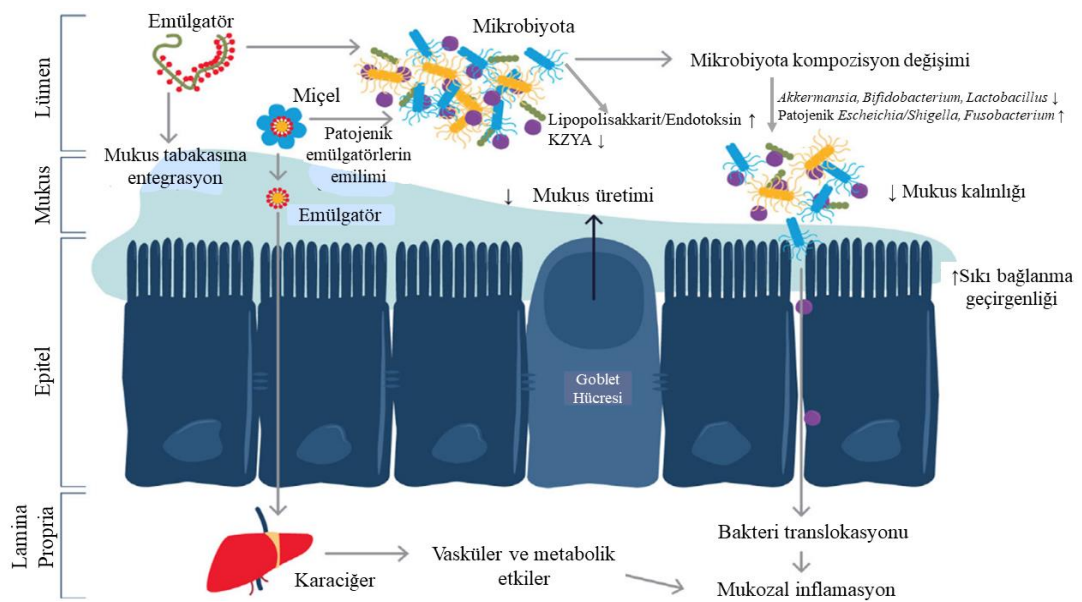
Besin etiketlerinde gıda katkı maddesinin kullanılan miktarına ilişkin bilgi verilmediği için günlük alımı besin tüketimlerinden kesin olarak analiz etmek mümkün değildir. Gıda sanayisi kullanılan miktar bilgisini paylaşmaktan kaçınmaktadır (8). Amerika’da yapılan bir çalışmada emülgatörlerin küresel pazardaki tüm onaylı gıda bileşenlerinin yaklaşık %75’ini oluşturduğunu, en çok kullanılan emülgatörün CMC, polisorbat 80, lesitin, yağ asitlerinin mono ve digliseritleri, sükroz esterleri ve poligliserol polirisinolat olduğunu bildirmiştir. Çalışmada 10-14 günlük besin tüketimi değerlendirildiğinde yetişkinlerde günlük ortalama lesitin alımının 61 mg/kg (90. percentil değeri 114 mg/kg), MDGs alımının 75 mg/kg (90. percentil değeri 148 mg/kg), CMC alımının 24 mg/kg (90. percentil değeri 53 mg/kg), P80 alımının ise 5 mg/kg (90. percentil değeri 9 mg/kg) olduğu bildirilmiştir. Bu emülgatörler için belirlenen bir ADI değeri olmadığı için (P80 hariç) alınan miktarın karşılaştırılacağı bir referans bulunamadığı belirtilmiştir. Amerika’da 171 gıda katkı maddesinin emülgatör sınıfında yer aldığı ve bunların toplam maruziyetinin önemli olduğu vurgulanmıştır (9).

Yapılan çalışmalarda çeşitli emülgatör ve kıvam artırıcıların mukus üretimini azalttığı, intestinal geçirgenliği ve bakteriyal translokasyonu artırdığı, mikrobiyota

kompozisyonunu ve fonksiyonunu değiştirdiği ve böylece intestinal ve sistemik inflamasyona neden olabileceği bildirilmiştir (15,111).

Emülgatörlerin mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği, alfa ve beta çeşitliliği azalttığı, *Bacteroidales* türünü artırdığı; *Clostridiales* türünü ve antiinflamatuvar özelliği olan *A. muciniphila* varlığını azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca bazı emülgatörlerin mukoza ilişkili, inflamasyonu artırıcı *Proteobacteria* varlığını artırdığı bildirilmiştir (13,15). Maternal P80 alımının yavrularda intestinal bariyeri bozarak ve intestinal disbiyozise neden olarak, ileri yaşta kolit oluşma riskini artırdığı bildirilmiştir (112). Yapılan bir in vitro çalışmada CMC, P80 ve soya lesitininin fekal mikrobiyota kompozisyonunu ve KZYA kompozisyonunu değiştirdiği, ayrıca inflamatuvar belirteçlerde artışa neden olduğu bildirilmiştir (11).

Genel olarak emülgatörler ve kıvam artırıcıların bariyer fonksiyonunu bozarak bakteri translokasyonunu artırdığı, mukus kalınlığını azalttığı, mikrobiyotanın fonksiyonel karakteristiğini değiştirdiği, mukozal inflamasyonu tetiklediği ve metabolik ürünleri değiştirdiği, böylece intestinal sağlığı olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Emülgatörlerin intestinal sağlık üzerine potansiyel etkileri **şekil 2.2**'de gösterilmiştir (104,113). EFSA'nın Yükselen Riskler Raporu'nda, "gıda emülgatörleri, bağırsak mikrobiyomu ve uzun dönem sağlık etkileri" araştırılması gereken konu olarak tanımlamıştır (114).



şekil 2.2. Emülgatör ve kıvam artırıcıların potansiyel etki mekanizmaları (104,113).

2.4. Prebiyotikler

Bağırsak mikrobiyotasının hastalıklar üzerindeki öneminin fark edilmesiyle mikrobiyotayı ve mikrobiyotanın konakçı ile etkileşimini modüle edebilen müdahalelere ilgi artmıştır (115). Düzenli posa alımının, bağırsak mukus bariyerinin bağırsak mikrobiyotası tarafından aşınmasını önlediği, patojen enfeksiyonunu engellediği ve kolit insidansını azaltmaya yardımcı olduğu bildirilmiştir (116).

Diyet posası daha önceden sindirilmeyen bitki duvarı bileşenleri olarak tanımlanırken, güncel tanımlama, bitkinin yenilebilir kısımlarını ve ince bağırsakta sindirime dirençli ve kalın bağırsakta fermente edilebilen benzer karbonhidratları (ekstre edilmiş/sentetik) içerecek şekilde genişletilmiştir (117). Kodeks Alimentarius'a göre diyet posası "insanların ince bağırsağında endojen enzimler tarafından hidrolize edilmeyen, on veya daha fazla monomerik üniteye sahip karbonhidrat polimerleri" olarak tanımlanmıştır. Bu tanımla posa; tüketilen besinde doğal olarak oluşan yenilebilir karbonhidrat polimerlerini, besin maddesinden fiziksel, enzimatik veya kimyasal yollarla elde edilen, sağlığa faydaları ve fizyolojik etkileri otoritelerce kanıtlanmış sentetik karbonhidrat polimerlerini içermektedir. İnülin, sindirilmeyen bir karbonhidrat polimeri olması nedeniyle diyet lifi olarak kabul edilmektedir (118).

Oligosakkaritler ve inülin birçok besinde doğal olarak bulunan kısa zincirli karbonhidratlar olup, bunlar düşük molekül ağırlıklı diyet posası olarak sınıflandırılmaktadır. Oligosakkaritler ve inülin hem diyet posası içeriğini arttırmak, hem de tatlandırıcı, yağ ikamesi, tekstür modifiye edici ve nemlendirici olarak gıda ürünlerine eklenebilmektedir (119). Düşük molekül ağırlıklı sindirilmeyen karbonhidratlar (oligosakkaritler ve inülin) dünya çapında birçok ülkede diyet posası olarak kabul edilmektedir. Oligosakkaritlerin diyet posası olarak dahil edilmesi CAC tanımında isteğe bağlı hale getirilmiş ve bu durum farklı ülkelerde farklı sınıflandırmaların yapılmasına neden olarak literatürde tartışmalara neden olmuştur (120).

Yakın zamanda ESPEN, düşük molekül ağırlıklı karbonhidratların özellikle irritable bağırsak sendromu olan hastalar için olumsuz sağlık sonuçlarına yol açmaları

nedeniyle, Kodeks sınıflamasında bu bileşenlerin diyet posası sınıfından ayrılmasını ve bunların prebiyotik veya gıda katkı maddesi sınıfına dahil edilmesini önermiştir (121).

Düşük molekül ağırlıklı diyet posası türleri, proksimal kolondaki bağırsak bakterileri tarafından fermente edilerek KZYA ve gaz üretilmesini sağlamaktadır. KZYA, bağırsak motilitesinde, bağışıklık sisteminin modülasyonunda, bağırsak bariyer bütünlüğünde, iştahın düzenlenmesinde ve gastrointestinal homeostazda önemli rol oynamaktadır (122). Bu diyet posasının kolondaki yararlı bakterilerin, özellikle de *Lactobacilli* ve *Bifidobakteri*'lerin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak teşvik ettiği, potansiyel olarak konağın sağlığına fayda sağladığı ve bunların 'prebiyotik' olarak sınıflandırılmasına olanak sağladığı bilinmektedir (123).

Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği, prebiyotikleri “konakçı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak fermente edilerek gastrointestinal mikrobiyotanın kompozisyonunu ve/veya aktivitesini değiştiren ve böylece sağlık yararı sağlayan bileşikler” olarak tanımlamıştır. İnsanlarda kullanılması önerilen herhangi bir prebiyotiğin yapısal biyokimyası açısından ayrıntılı analiz edilmesi, ayrıca mide asitine, safraya ve sindirim enzimlerine karşı dayanıklı olması, vücutta etkin olduğu bölgeye (genellikle kolon) bozulmadan ulaşması ve sağlık için faydalı etki göstermesi gerekmektedir (124).

Prebiyotikler birden fazla yolak üzerinden bağırsak immünesini etkileyebilmektedir. Prebiyotikler organik asitlerin üretimi ve yararlı bakterilerin çoğalmasını sağlayarak lümen pH'sında azalmaya neden olmakta ve böylece patojenlerin büyümesini engellemektedir. Kommensal mikroorganizmalar kararlı popülasyonun oluşturulmasını ve besin varlığını azaltarak patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellemektedir (125). Prebiyotiklerin konakçı mikroorganizmalar tarafından seçimli kullanımları, fizyolojik etkilerindeki en önemli faktördür. Konakçı mikroorganizmalar tarafından prebiyotiklerin fermentasyonu sonucu KZYA oluşmaktadır. Kolonda üretilen KZYA'nın büyük kısmını (\geq %95) asetat, propiyonat ve bütirat oluşturmaktadır. KZYA, kolonosit fonksiyonu, bağırsak homeostazı, enerji kazanımı, bağışıklık sisteminin modülasyonu, kan lipitlerinin

düzenlenmesi, iştahın regülasyonu dahil olmak üzere birçok fonksiyonu bulunmaktadır (115).

Kısa zincirli yağ asitleri epitel bariyer bütünlüğünün korunmasında ve diğer immün fonksiyonlarda önemli rol oynamaktadır. Prebiyotikler esas olarak G-proteini ile birleştirilmiş reseptör-aracılı yollar üzerinden hem lokal hem de sistemik bağışıklık hücreleri ve bağırsakla ilişkili epitel hücreler üzerinde etki göstermektedir (126). Bununla birlikte, histon deasetilaz inhibisyonu ve inflamasyon yolu dahil olmak üzere diğer yollar da immünmodülatör etkinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Prebiyotiklerin ayrıca, direkt olarak bağırsakla ilişkili epitel üzerinden ve TLR aracılığıyla doğuştan gelen bağışıklık hücreleri üzerine etki ederek mikrobiyotadan bağımsız bir etki yaratabileceği bildirilmiştir. Kümülatif etki, pro- ve anti-inflamatuvar sitokinlerin salgılanması, makrofaj polarizasyonu ve işlevindeki geçişler, nötrofil alımı ve göçü, dendritik hücre ve düzenleyici T-hücre farklılaşması yoluyla doğal bağışıklığın modülasyonu ve epitel bariyer bütünlüğünün korunmasını sağlamaktadır (49).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi bir patojen veya doku yaralanmasıyla karşılaştığında inflamasyon tetiklenmektedir. Hücre yüzeyinde ve sitoplazmasında bulunan reseptörler dış saldırıyı algılamakta, sinyal yollarını, sitokinleri, kemokinleri ve inflamasyon düzenleyicileri kodlayan genleri indükleyen NF- κ B, aktivatör protein-1 (AP-1) siklik adenosin monofosfat (cAMP) cevap elemanı bağlayıcı protein (CREB) ve interferon düzenleyici faktör gibi transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir (127). Ayrıca prebiyotikler tek başına veya KZYA üretimi ile birlikte, patern tanıma reseptörü (PRR) veya G-proteini kenetli reseptörü (GPCR) aktive ederek antiinflamatuvar yanıtı kolaylaştırabilmektedir (49).

Prebiyotikler intestinal epitel hücreler yoluyla bağırsak bariyer fonksiyonunu etkileyebilmektedir. İntestinal bariyer ve bağırsak ilişkili lenfoid doku, doğuştan bağışıklık yanıtın ilk savunma hattıdır. Bağırsak epiteli, mikropların, toksinlerin veya antijenlerin penetrasyonuna karşı seçici olarak geçirgen bir bariyer görevi gören, tek tabakalı yapıdadır. Bariyer fonksiyonunun seçiciliği, komşu hücreleri birbirine bağlayan ve hücreler arası boşluğu bloke eden karmaşık protein-protein ağlarından oluşmaktadır (128). Bariyer fonksiyonundaki herhangi bir bozulma inflamatuvar ve

otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olmaktadır. Prebiyotikler intestinal bariyer fonksiyonu üzerinde olumlu etki göstermektedir. Fermentasyon sonucu oluşan KZYA, GPCR aktivitesi ile interlökin-10 (IL-10), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) salınımına neden olarak T_{reg} hücrelerini uyarmaktadır (126).

Bağırsakta herhangi bir patojenik istilada ilk adım, patojenlerin epitelyal hücrelere yapışması ve ardından kolonizasyondur. Galaktooligosakkaritler, fruktooligosakkaritler (FOS), inülin, laktuloz, rafinoz ve pektin gibi bazı prebiyotiklerin, patojen bağlanma bölgesini taklit eden çözünür tuzak reseptörler gibi hareket ederek bu etkiyi antagonize ettiği, böylece patojenin bağlanmasını ve bağırsaktan eliminasyonunu kolaylaştırdığı rapor edilmiştir (129).

Birçok fermente karbonhidratın prebiyotik etkisi olduğu rapor edilmiştir. Ancak insanlarda sağlık yararları olduğu en kapsamlı şekilde kanıtlanan prebiyotikler, inülin ve fruktooligosakkaritleri (FOS) içeren fruktanlar, galaktooligosakkaritler (GOS), dirençli nişasta ve polidekstrozdur. Bu oligosakkaritler *Bifidobakteri*'ler tarafından seçici olarak metabolize edilmektedir. Fruktooligosakkarit ve galaktooligosakkaritteki bağlar, *Bifidobakteriler*'de yaygın olan sırasıyla β -fruktanosidaz ve β -galaktosidaz enzimleri tarafından kolaylıkla parçalanabilmektedir. Bu bakteri türünün özellikle oligosakkaritlere özgü zincir uzunluğu olan 4-30 arasında değişen bir polimerizasyon derecesini metabolize edebildiği belirtilmiştir (130). Yapılan çalışmalarda inülin, galaktooligosakkaritler ve oligofruktoz gibi prebiyotiklerin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği, özellikle probiyotik etki gösteren *Bifidobacterium* türlerinde artışa neden oldukları bildirilmiştir (131–133).

Prebiyotikler, obezite, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi kronik hastalıklarda olumlu etkiler göstermektedir (134). Farklı hastalıklar için kullanılan prebiyotikler fruktooligosakkaritler, galaktooligosakkaritler, inülin, laktuloz ve polidekstrozdur. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ve bağırsak sağlığı için sıklıkla araştırılan prebiyotiğin ise inülin olduğu bildirilmiştir (135).

2.4.1. İnülin

İnülin, terminal α 1- β 2 ile bağılı glikoz molekülü ile doğrusal beta-1,2 ile bağılı fruktoz birimlerinden oluşun bir fruktandır. İnülin moleküllerinin fruktozil zincirlerinin uzunlukları değışken olup 2-60 fruktoz birimi içerebilmektedir. İnülin birçok bitki ve sebze de bulunan doğal bir bileşendir. İnülin açısından zengin kaynaklar arasında kuşkonmaz, hindiba, soğan, sarımsak, pırasa ve yer elması gibi sebzeler bulunmaktadır (20). Hindiba kökleri inülinin en iyi kaynağı olup, endüstriyel olarak üretilen inülin sıklıkla hindiba kökünden elde edilmektedir (136). Yaygın olarak hindiba olarak bilinen *Cichorium intybus L.*, Asteraceae familyasına ait olup Asya ve Avrupa'da yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bitkinin tüm kısımları alkaloidler, kumarinler, klorofil pigmentleri, flavonoidler, inülin, saponinler, seskiterpen laktonlar, doymamış steroller, vitaminler ve tanenler gibi çeşitli bileşiklerin varlığı nedeniyle önemli tıbbi değere sahiptir (137). Taze hindiba %69 inülin, %14 süzkroz, %5 selüloz, %6 protein, %4 kül ve %3 diğ er bileşikleri içerirken, kurutulmuş hindiba %98 inülin ve %2 diğ er bileşikleri içermektedir. Ayrıca fenolik bileşikler, vitaminler (A ve C vitamini), mineraller (potasyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum, demir, çinko) hindiba köklerinin önemli bileşenlerindedir (138). Bununla birlikte yer elmasından elde edilen inülin de ticari olarak kullanılmaktadır. Yer elması ve hindiba köklerinden farklı zincir uzunluklarında ticari inülin elde etmek için fiziksel ayırma teknikleri kullanılmaktadır. Bu işlem sırasında inülin, sıcak su difüzyonu kullanılarak kökten ekstrakte edilir ve daha sonra saflaştırılıp kurutulur. Bu işlem, 2-60 arasında değış en zincir uzunluğ una sahip doğal inülinin elde edilmesine olanak tanımaktadır (139).

Polimerizasyon derecesi 3-10 arasında değış en inülin moleküllerine oligofruktoz veya frukto-oligosakkaritler adı verilmektedir. Oligofruktoz, inülinin, inülinaz enzimi ile kısmi hidrolizasyonu sonucunda elde edilmektedir. İnülin oda sıcaklığ ında orta düzeyde çözü nürken (%10), oligofruktoz yüksek çözü nürlü ğ e sahiptir (%80). İnülin ve oligofruktoz pH 5'in üzerinde ısıya dayanıklıdır. Asidik pH'da (<4) ısıtma süresi ve sıcaklığ a bağılı olarak hidroliz meydana gelmektedir. Besinlerin inülin ve oligofruktoz içerikleri **Tablo 2.1**'de verilmiştir (20).

Tablo 2.1. Besinlerin inülin ve oligofruktoz içerikleri (g/100g) (20).

Besinler	İnülin	Oligofruktoz
Muz (taze)	0,5	0,5
Kuşkonmaz (taze)	2,5	2,5
Hindiba kökü (taze)	17,5	9,6
Sarımsak (taze)	12,5	5,0
Yer elması (taze)	18,0	13,5
Pırasa (taze)	6,5	5,2
Soğan (taze)	4,3	4,3
Buğday kepeği (taze)	2,5	2,5
Buğday unu (pişmiş)	2,4	2,4
Arpa (taze)	0,8	0,8
Çavdar (pişmiş)	0,7	0,7

İnülin tipi fruktanlar çözünür lifler olduğundan, özellikle işlenmiş gıda ürünlerinde çeşitli uygulamalara sahiptirler. İnülin tipi fruktanlar, prebiyotik aktivite için diyet lifi içeriğini arttırmak amacıyla gıda ürünlerine eklenebilmektedir. Gıda sanayinde inülin ayrıca yağ ikamesi, şeker ikamesi, kıvam artırıcı, jelleştirici, hacim verici, tekstür düzenleyici olarak içecekler, yoğurtlar, bisküviler ve sürülebilir ürünler gibi gıda ürünlerinde gerekli tat ve kıvamı elde etmek için bir gıda katkı maddesi olarak da kullanılabilir (136,140).

Gıda ürünlerine eklenen oligosakkaritler ve inülin, doğal gıdalarda bulunan miktardan çok daha yüksek düzeydedir. Gıdalarda bulunan oligosakkarit ve inülin alımı ile bu bileşenlerin prebiyotik etkilerini sağlayacakları miktara ulaşamamaktadır. Gıdalara eklenen miktarlar normal diyetle alıma göre en az 20 g ekstra alım sağlayabilmektedir (141). Amerika'da günlük diyetle inülin (ortalama 2,6 g/gün) ve oligofruktoz (ortalama 2,54 g/gün) alımının 1-4 g/gün arasında değiştiği, Avrupa'da ise ortalama 3-11 g/gün olduğu bildirilmiştir (142). Tahran'da yapılan güncel bir çalışmada yetişkin bireylerin günlük ortalama inülin alımlarının 6,46 g olduğu ve bunun çoğunun buğdaydan (%73,5) ve soğandan (%21,2) geldiği belirtilmiştir (143). EFSA, inülinin bağırsak fonksiyonları üzerine faydalı etkilerinden

yararlanabilmek için günlük en az 12 g hindiba inülini (inülin ve inülin tip fruktan) tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir (144).

Genel popülasyonda günlük 20 g'a kadar inülin ve FOS'un iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Bunların gıda ürünlerinde ne kadar tüketilebileceğine ilişkin herhangi bir uyarı bulunmamaktadır. Genel olarak, sindirilmeyen oligosakkaritlerin alımıyla ilgili herhangi bir güvenlik endişesi bulunmamaktadır. Ancak aşırı alım gaz oluşumu ve bazı fermentasyon ürünlerinin ozmotik etkilerinden kaynaklanan şişkinlik, kramplar ve sıvı dışkılama gibi yan etkilere neden olabilmektedir (20,145).

Inülin tipi fruktanlar, prebiyotik özelliği ile bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca lipid profilinin iyileştirilmesi, kan glikozunun düzenlenmesi, tokluk hormonlarının salgılanması, mineral emilimini artırması, kolon kanserine karşı koruması ve konstipasyonun üzerinde olumlu etkisinin olması prebiyotik özelliğiyle ilişkilidir (146). İnülinin fermentasyonu sonucu oluşan KZYA total kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesini düşürerek ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyesini artırarak lipid metabolizmasını düzenleyebilmektedir. KZYA insülin duyarlılığını artırabilmekte ve peptid YY, glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) seviyesini artırarak iştahı azaltabilmektedir. Ayrıca üretilen KZYA bağırsak pH'sını düşürerek minerallerin ve özellikle kalsiyum ve magnezyumun kolonik emilimini artırarak, kemik mineral yoğunluğunun korunmasında fayda sağlayabilmektedir (147).

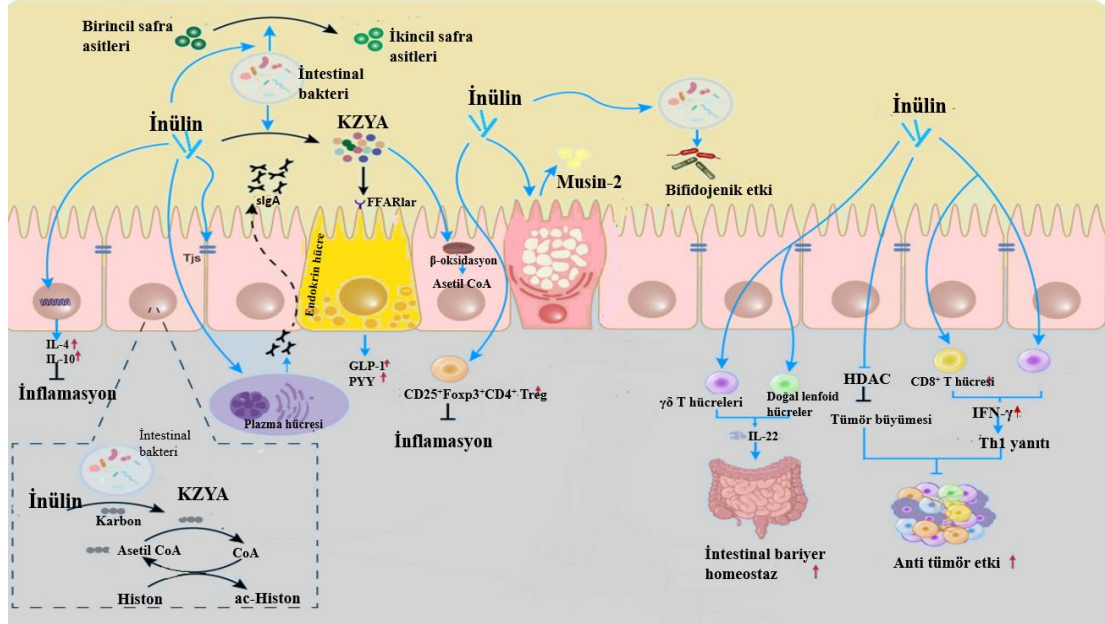
Inülin, konağın patojen translokasyonuna karşı savunmasına yardımcı olan prebiyotik etkisiyle mikrobiyal popülasyonu korumakta, epitel bariyer işlevini desteklemekte ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarının semptomlarının önlenmesinde ve immün modülasyonda olumlu etkiler göstermektedir (5). İnülin, T hücreleri ve doğal lenfoid hücreler tarafından interlökin-22 (IL-22) sekresyonunu desteklemekte ve böylece bağırsak bariyerinin iyileştirilmesine katkıda bulunmaktadır. İnülinin kolon bakterileri tarafından fermentasyonu sonucu oluşan KZYA (asetat, propiyonat ve özellikle bütirat) intestinal epitel hücreler için enerji sağlamakta, bariyer fonksiyonunu desteklemekte ve immün hücre farklılaşmasının düzenlenmesine katılarak mukozal immünitinin sürdürülmesini desteklemektedir (148). KZYA ayrıca hepatik portal ven aracılığıyla dolaşıma katılarak sinyal molekülü olarak görev yapmakta ve sistemik

immün fonksiyonu regüle etmektedir. KZYA, spesifik serbest yağ asidi reseptörlerini (FFAR'lar) aktive etmektedir. FFAR'lar kolonik T_{reg}'lerde diğer hücrelerden daha fazla eksprese edilmektedir. Bu durum KZYA'nın intestinal immün homeostazın sürdürülmesindeki potansiyel rolünü göstermektedir (149).

İnülinin, sıkı bağlanma proteinlerini düzenleyerek intestinal bariyer fonksiyonunu desteklediği, villus yüksekliğini, asetat ve bütirat seviyesini artırdığı, IL-6, TNF- α seviyesini ve intestinal epitel hücre apoptozunu azalttığı bildirilmiştir (150,151). Mukusun temel bileşeni olan musin-2, spesifik olmayan bir fiziksel bariyer görevi görmektedir ve bağırsak homeostazını düzenlemektedir. Musin-2'nin dentritik hücreler tarafından alınabildiği ve NF- κ B gen transkripsiyonunu inhibe ederek inflamatuvar dentritik hücrelerin sayısını azaltabileceği bildirilmiştir (152). İnülinin goblet hücreleri tarafından musin-2 sekresyonunu ve sekretuar immünoglobülin-A aktivitesini artırabileceği belirtilmiştir (153).

İnülin ayrıca yararlı bakterilerin proliferasyonunu destekleyerek ve intestinal pH'yı düşürerek patojen bakterilerin kolonizasyonunu inhibe etmekte ve KZYA üreten bir probiyotik olan *Bifidobacteria*'nın varlığını artırarak bifidojenik etki göstermektedir (148). *Bifidobacterium*'dan başka *F. prausnitzii* de inülini bütirata fermente edebilen bağırsak bakterilerinden biridir. Antiinflamatuvar metabolitlerin üretilmesinde görev alan *F. Prausnitzii* inflamatuvar bağırsak hastalıkları gelişimi ile ters ilişkilidir (154). Yapılan bir çalışmada 2,5 g/kg ve 5 g/kg inülin veya fruktooligosakkarit verilen farelerde bakteriyel çeşitliliğin, *A. muciniphila* düzeyinin ve çekal musin seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca bütirat üreten bakteri popülasyonunun arttığı, böylece bütirat üretiminin artmasıyla bağırsak sağlığının korunduğu bildirilmiştir (155). Yapılan bir meta analizde 5-20 g/gün inülin veya oligofruktoz verilen bireylerde mikrobiyota kompozisyonun değiştiği, özellikle oligofruktozu degrade edebilen *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* ve *Lactobacillus* varlığının arttığı ve *Bacteroides* varlığının azaldığı bildirilmiştir. *Bacteroides* varlığının azalmasının KZYA üretimi ile düşen pH ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Sonuçta bireylerin inüline verdikleri yanıtın bireysel farklılıklar gösterdiği, diyetin, hastalık durumunun ve ilaç kullanımının bu durumu etkilediği vurgulanmıştır (156).

İnülinin mukozal immün sistem ve intestinal sağlık üzerine etkileri Şekil 2.3'de özetlenmiştir (148).



Şekil 2.3. İnülinin mukozal immün sistem üzerine etkisi (148). **KZYA:** Kısa zincirli yağ asitleri, **sIgA:** Sekretuar immunoglobulin-A, **FFARs:** Serbest yağ asiti reseptörleri, **GLP-1:** Glukagon-benzeri peptit-1, **PYY:** peptit YY, **HDAC:** histon deasetilaz.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada seçilen gıda emülgatörlerinin (karboksi metil selüloz ve lesitin) intestinal mikrobiyota ve inflamasyon üzerine etkilerini belirlemek ve prebiyotik olan inülinin bu etkilere karşı koruyucu özelliğini incelemek amaçlanmıştır. Bu amaçla 12 hafta boyunca CMC ve lesitin verilen fare gruplarının bir kısmına ayrıca inülin uygulaması yapılmıştır. Çalışma sonunda farelerden mikrobiyota analizlerinin yapılabilmesi ve fekal lipokalin-2 (Lcn-2) seviyesinin belirlenebilmesi için gaita örnekleri, serum inflamatuvar parametrelerin belirlenebilmesi için kan örnekleri ve patolojik incelemeler için ince bağırsak ve kolon örnekleri alınmıştır.

Bu çalışma, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 17.03.2021 tarih ve 735 sayılı karar ile onaylanmış (**EK-1**) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından “Hızlı Destek Programı (1002)” kapsamında 221S218 proje numarası ile desteklenmiştir (**EK-2**). Ayrıca, Hacettepe Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) doktora tezi proje bütçesi malzeme desteği için kullanılmıştır.

3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Sayısı

Bu araştırmanın deneysel aşaması 28.10.2021-26.06.2022 tarihleri arasında yürütülmüştür. Gruplardaki deney hayvanı sayıları, tez konusu ile ilgili benzer çalışmalarda etki büyüklüğü göz önünde bulundurularak GPower programı ile ($\alpha=0,05$ ve %80 güç oranı için) her grupta 6 hayvan olacak şekilde belirlenmiştir ($n=6/\text{grup}$) (12,15). Mikrobiyota analizi için bütçe yetersizliği nedeniyle her gruptan rastgele 5 hayvan seçilerek analizler yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının beslenme ve vücut ağırlığı takipleri ile ötenazi işlemi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Ötenazi sonrası örneklerin saklanması, dokularda patoloji analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalında yapılmıştır. Kan ve dışkı örneklerindeki analizler Diagen Biyoteknolojik Sistemleri A.Ş. laboratuvarında tamamlanmıştır.

Deney hayvanlarının dışkı örneklerinden DNA analizi ve biyoinformatik okumalar Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yapılmış ve mikrobiyota sekans analizi için Diagen Biyoteknolojik Sistemleri A.Ş.'den hizmet alımı yapılmıştır.

3.2. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı

Çalışmada kullanılan deney hayvanları, 4 haftalık erkek C57Bl/6 fareler (n=30), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Deney Hayvanları aynı merkezde oda sıcaklığında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), ortam neminin %55-60 olduğu, havalandırma şartları sağlanmış, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda barındırılmıştır.

Her bir hayvan, deney ortamına alışabilmesi için, çalışma öncesi 1 hafta süresince *ad libitum* olarak standart yem ve suyla beslenmiştir. Temin edilen fareler teslim alınırken vücut ağırlığı ölçümü yapılmış ve gruplardaki farelerin başlangıç ağırlık ortalamaları benzer olacak şekilde gruplara randomize edilmiştir. Çalışma süresince tüm gruplardaki farelerin standart yeme (VRF-1 diet, Witham, İngiltere-SDS) ve suya *ad libitum* ulaşmaları sağlanmıştır. Yemin içeriğini buğday, buğday yemi, ekstrüde soya fasulyesi, arpa, soya yağı, vitamin ve minerallerin karışımı oluşturmaktadır. Nitrojensiz ekstraktı nişasta, şeker, organik asitler ve ligninden oluşmaktadır. Kullanılan standart yemin enerji ve makro besin ögesi içeriği **Tablo 3.1**'de verilmiştir.

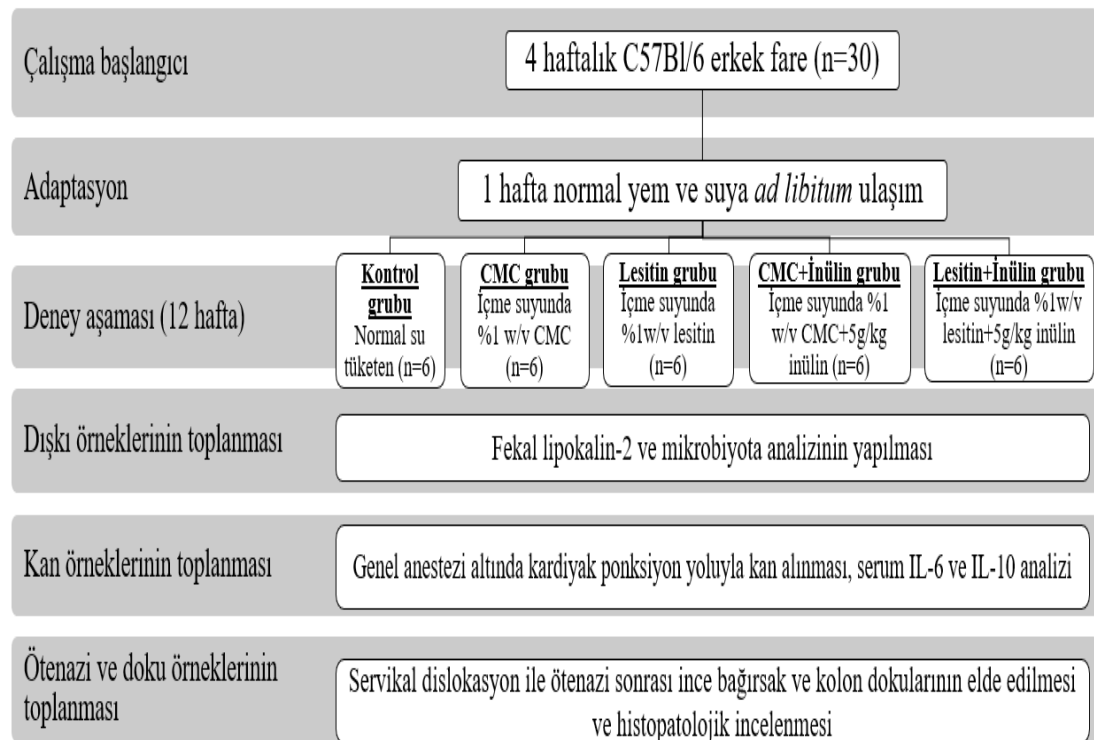
Tablo 3.1. Deney hayvanlarının diyetinin enerji ve makro besin ögesi içerikleri (%) (157).

Enerji ve Besin Ögeleri	%
Nitrojensiz ekstrakt	55,32
Nişasta	35,41
Sükroz	4,64
Ham protein	19,11
Ham yağ	4,75
Ham posa	3,85
Enerji (kkal/g yem)	3,40

Nitrojensiz ekstrakt: tüm bileşimden (%100); nem (%), ham protein (%), ham yağ (%), ham posa (%), ve ham kül miktarı çıkarılarak bulunmakta ve diyetin çözümler karbonhidrat içeriğini oluşturmaktadır.

Her bir grupta 6'şar fare bulunan 5 grup üzerinde, toplam 30 adet, erkek C57Bl/6 fare ile 12 haftalık çalışma yapılmıştır. Çalışma sürecinin tüm aşamaları **Şekil 3.1**'de gösterilmiştir. Çalışma grupları aşağıda belirtildiği gibidir:

- i. Kontrol Grubu:** Çalışma süresince normal su verilen grup (n=6)
- ii. CMC Grubu:** İçme suyuna %1 w/v oranında sodyum karboksi metil selüloz (CMC) eklenen grup (n=6)
- iii. Lesitin Grubu:** İçme suyuna %1 w/v oranında lesitin eklenen grup (n=6)
- iv. CMC+İnülin Grubu:** İçme suyuna %1 w/v oranında sodyum karboksi metil selüloz ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen grup (n=6)
- v. Lesitin+İnülin Grubu:** İçme suyuna %1 w/v oranında lesitin ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen grup (n=6)



Şekil 3.1. Çalışma sürecinin aşamaları.

Deney hayvanlarının yem tüketimleri ile vücut ağırlıkları her hafta hassas terazide tartılmıştır. Yem tüketimleri için fareler temiz bir kafese alınmış, bilinen miktarda yem koyulan kafeslerde 24 saat geçirdikten sonra kalan yemler tartılarak 24 saatlik yem tüketimleri hesaplanmıştır. Farelerin su tüketimlerini belirlemek için

suluklarına bilenen miktarda su konulduktan sonra hafta sonunda kalan su miktarı ölçülerek haftalık su tüketimleri ml cinsinden kayıt altına alınmıştır. Suluklardan su kaybını önlemek için su dikkatli bir şekilde yerleştirilmiş ve suluklardan spontan su kaybı olup olmadığı her gün kontrol edilmiştir. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları 12 hafta boyunca her hafta başında tartılmış, başlangıça göre vücut ağırlığı değişim yüzdesi olarak ifade edilmiştir.

3.2.1. Deney Hayvanlarına Emülgatör Uygulaması

Emülgatör uygulaması için her kafese bilinen miktarda %1w/v derişimde CMC veya lesitin içeren içme suları veya kontrol grubu için içme suyu haftalık olarak hazırlanarak yerleştirilmiştir. Haftanın sonunda kalan miktarlar ölçülerek kafesteki farelerin bir haftalık ortalama su tüketimleri belirlenmiştir. Uygulanan emülgatör dozu literatürdeki benzer çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (12,15,158). %1w/v derişimle hazırlanan emülgatör solüsyonları için, toplam tüketilen günlük su miktarı üzerinden, günlük ortalama emülgatör alımları hesaplanmıştır.

3.2.2. Deney Hayvanlarına İnülin Uygulaması

Bu çalışmada prebiyotik kaynağı olarak oligofruktozla zenginleştirilmiş inülin kullanılmıştır (Orafti Synergy1; BENE0, Belçika). Kullanılan prebiyotik, hindiba kökünden elde edilmiş inülin fraksiyonlarının kombinasyonundan oluşmaktadır. İçeriğinde uzun zincirli inülin (polimerizasyon derecesi (PD)≥10) ve daha kısa zincirli olan oligofruktoz (PD<10) eşit miktarda bulunmaktadır. İnülinin intestinal mikrobiyota ve inflamasyon üzerine etkilerini araştıran çalışmalar baz alınarak inülin dozu 5 g/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (155,159). Farelere inülin her gün sabah, her fareye benzer sürelerde verilmiştir. İnülin uygulaması yapılmadan önce her bir fare tek tek tartılarak vücut ağırlığı başına alması gereken inülin dozu hesaplanmıştır. Oligofruktozla zenginleştirilmiş inülin suda kolayca çözünebilmektedir. İnülin suda çözünür formda iken sıvıya kıvam verdiğiinden uygulanacak doz mümkün olan en az miktarda içme suyunda çözdürülerek oral gavajla her fareye tek tek verilmiştir. İnülin uygulaması çalışmanın başından sonuna kadar devam etmiştir.

CMC+İnülin Grubu: İçme suyuna %1w/v oranında sodyum karboksi metil selüloz ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen grup (n=6).

Lesitin+İnülin Grubu: İçme suyuna %1 w/v oranında lesitin ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen grup (n=6).

3.3. Gaita ve Serum Örneklerinin Alınması, Ötenazi Yöntemi ve İnflamatuvar Belirteçlerin Analizi

3.3.1. Örneklerin Toplanması ve Ötenazi

Çalışmanın sonunda (84. gün) deney hayvanları boş otoklavlanmış kafeslere yerleştirildikten sonra normal dışkılamasına izin verilmiş ve hayvan başına yaklaşık 100 mg dışkı peleti steril bir kürdan kullanılarak 1,5 ml'lik Eppendorf tüpüne alınmıştır. Alınan gaita örneklerinin üzerine 100 mg gaita için 1 ml PBS solüsyonu eklenerek vorteks cihazında 20 dk homojenize edildikten sonra 3500 devirde 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant Eppendorf tüplerine aktarılarak Lcn-2 analizinin yapılacağı güne kadar -80 °C'de saklanmıştır.

On iki haftalık müdahale süresini tamamlayan farelere, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde ketamin-ksilazin HCl kombinasyonun intraperitoneal yolla verilmesiyle genel anestezi uygulanmıştır. Farelerin derin anestezi altında olduklarından emin olunduktan sonra işlem yapılacak masaya yatırılmıştır. Kalp atışının en güçlü hissedildiği yer palpe edilerek kardiyak punksiyon yöntemi ile kalpten kan alınmış, daha sonra servikal dislokasyon ile ötenazi gerçekleştirilmiştir. Ötenazi sonrası tüm farelerin histopatolojik inceleme için ince bağırsak ve kolonları çıkarılmıştır.

Alınan kanlar, sarı kapaklı, jelli plastik serum seperatör tüplerine konulmuştur. Kan örnekleri 3500 devirde 12 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrılmıştır. Elde edilen numuneler Eppendorf tüplerine aktararak IL-6 ve IL-10 analizinin yapılacağı güne kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.3.2. Gaita ve Serum Örneklerinde İnflamatuvar Belirteçlerin Analizi

Alınan kan örneklerinden serum IL-6 ve IL-10 seviyesi kantitatif sandviç enzim immünoassay yöntemi ile fareye özgü ticari ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) kiti kullanılarak analiz edilmiştir.

Analiz gününe kadar -80 °C’de saklanan gaitadan elde edilen süpernatantlardan inflamasyonun hassas ve yaygın belirteci olan Lcn-2 seviyesi fareye özgü ticari ELISA kiti kullanılarak analiz edilmiştir. ELISA kitleri kullanılarak yapılan tüm analizlerde üretici firmanın talimatları takip edilmiş ve tüm örnekler dublike çalışılmıştır.

Genel olarak ELISA yönteminde; hazırlanan standart solüsyonu ve örnekler IL-6, IL-10 ve Lcn-2’ye özgü antikorlarla kaplanmış mikropılaka kuyucuklarına eklenerek mevcut IL-6, IL-10 ve Lcn-2’nin antikorlara bağlanması için inkübe edilmiştir. Bağlanmamış maddelerin uzaklaştırılmasından sonra IL-6, IL-10 ve Lcn-2’ye özgü biyotin-bağlı antikorlar kuyucuklara eklenerek inkübe edilmiştir. Kuyucuklar yıkanarak bağlanmamış avidin-enzim reaktifleri uzaklaştırılmıştır. Substrat solüsyonu eklendikten sonra ilk aşamada bağlanan IL-6, IL-10 ve Lcn-2 miktarıyla orantılı olarak renk değişimi gözlenmiştir. Durdurma solüsyonu ile renk değişimi durdurulmuş ve renk yoğunluğu ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisi çizilerek örneklerin IL-6, IL-10 ve Lcn-2 düzeyleri pg/ml cinsinden hesaplanmıştır (160).

3.4. Histopatolojik Analizler

3.4.1. Dokuların hazırlanması ve Hematoksilen-Eozin (HE) boyama

Farelerin histopatolojik analizleri uzman patolog tarafından yapılmıştır. Farelerden nekropsi sırasında ince ve kalın bağırsak örnekleri itina ile alınmış ve %10’luk nötral formaldehit solüsyonu içinde tespit edilmiştir. İnce bağırsak örnekleri için ileum, kalın bağırsak örnekleri için kolon kesitleri alınmıştır. Örnekleme yapılırken her fareden aynı bağırsak bölgelerinin alınmasına özellikle dikkat edilmiştir. Bağırsak florasını daha iyi gözlemek ve mukozaya zarar vermemek için bağırsak içerikleri alınmamıştır. Ancak formaldehitin penetrasyonu için bağırsaklara küçük çentikler atılmıştır. İki gün formaldehitte bekletilen bağırsak örneklerinin bir

kez solüsyonları değiştirilmiş ve enine trimlemeler yapılmış ve daha sonra doku takip kasetlerine yerleştirilmiştir. Rutin doku takibi için ertesi gün akşam tüm kasetler tam otomatik ototeknikon cihazına (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) yerleştirilmiştir. Günlük vakumlu doku takip programına ayarlanarak solüsyonların doku örnekleri içine daha iyi penetre olması sağlanmıştır. Bu amaçla kasetler gece boyunca düşük alkollerden yüksek alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek organlardaki yağın alınması ve sıcak parafine atılarak doku boşluklarına parafinin yerleşmesi sağlanmıştır. Ertesi sabah takibi tamamlanan doku örnekleri parafine gömülerek blokajları yapılmıştır. Bu amaçla örnekler ototeknikon cihazından alınarak blokaj işlemi için doku gömme cihazına (Leica Histocore Arcadia H) yerleştirilmiş ve parafine blokajları gerçekleştirilmiştir. Ardından parafin bloklar doku gömme ünitesinin soğuk tabla bölümüne yerleştirilmiş ve bu tabla üzerinde bir saat tutularak parafinin donması sağlanmıştır. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica 2155 rotary mikrotomda (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) 5 mikron kalınlığında seri kesitler alınmış ve kurumaları için bir gece oda ısısında bekletilmiştir.

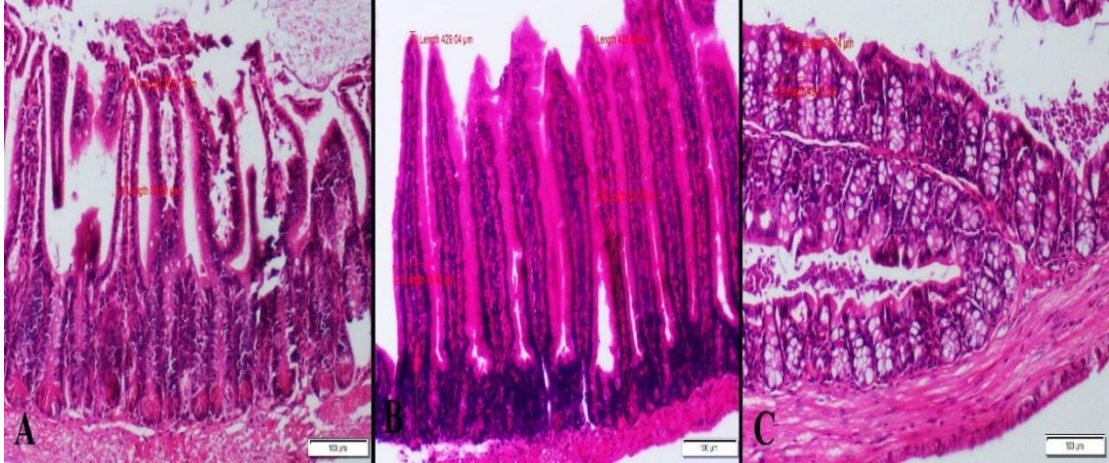
Bir sonraki gün kesitler köprülere dizilerek hematoksilen-eozin boyama için boyama prosedürüne alınmıştır. Öncelikle parafinin erimesi ve dokuların daha iyi yapışması için 2 saat, 60°C'de etüvde bekletilmiştir. Kalan parafinin uzaklaştırılması için 30'ar dakika ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirilmiştir. Daha sonra sırasıyla %100, %96, %90, %80 ve %70'lik alkollerden geçirilerek dokulara su verilmiş, sonrasında Harris hematoksilenle 15 dakika ve ardından eozinle 3 dakika boyanmıştır. Son olarak sırasıyla %70, %80, %90, %96 ve %100'lük alkollerden geçirilen dokuların suyu alınmış, ksilolde parlatılan dokuların üzerine entellan damlatılarak lamel yapıştırılmıştır. Boyadıktan sonra bir gün kurutulan kesitler mikroskop altında incelenmeye hazır hale getirilmiştir. Preparatlar Olympus CX21 model ışık mikroskopunda incelenerek Olympus DP26 model kamera ile mikroskopik dijital fotoğrafları çekilmiş ve bilgisayar ortamına kaydedilmiştir.

Yangısal reaksiyonun şiddet ve derecesi mikroskopik bulgulara göre skorlanmıştır (**Tablo 3.2**). Her bir preparattan 5 ayrı alan seçilerek skorlanmaları yapılmış ve her bir fare için bunların ortalamaları alınmıştır.

Tablo 3.2. Histopatolojik bulguların skorlaması.

0	1	2	3
Lezyon yok	Bağırsak villuslarında kalınlaşma ve kütleleşme	Propria mukozada hafif şiddette yangısal hücre infiltrasyonları	Submukozaya kadar ilerleyen yangısal hücre infiltrasyonları

Ayrıca her bir farenin ileum ve kolonlarından ayrı ayrı 10 adet rastgele villus seçilerek villus boyu ve kalınlığı ve kript uzunluğu tek tek ölçülmüştür. Villus boyu için villusun en üst noktası ile epitel hücrelerinin altındaki bağ doku arası, villus kalınlığı için ise villusun orta kısımlarına yakın alanlardaki en kalın noktası seçilerek ölçülmüştür (**Şekil 3.2**). Ölçümler ve mikrofotografi için Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Co., Tokyo, Japan) bilgisayar programı kullanılmıştır. Bu program objektife göre otomatik olarak işaretli alanı seçtiği için, herhangi bir işlem hatası olmaması için bütün işaretlemeler aynı kişi tarafından ve 20X objektif altında yapılmıştır (161).



Şekil 3.2. İleum (A-B) ve kolonlarda (C) bilgisayar programı ile villus uzunluk ve kalınlıklarının ölçümü, değerler kırmızı yazılar halinde gösterilmektedir.

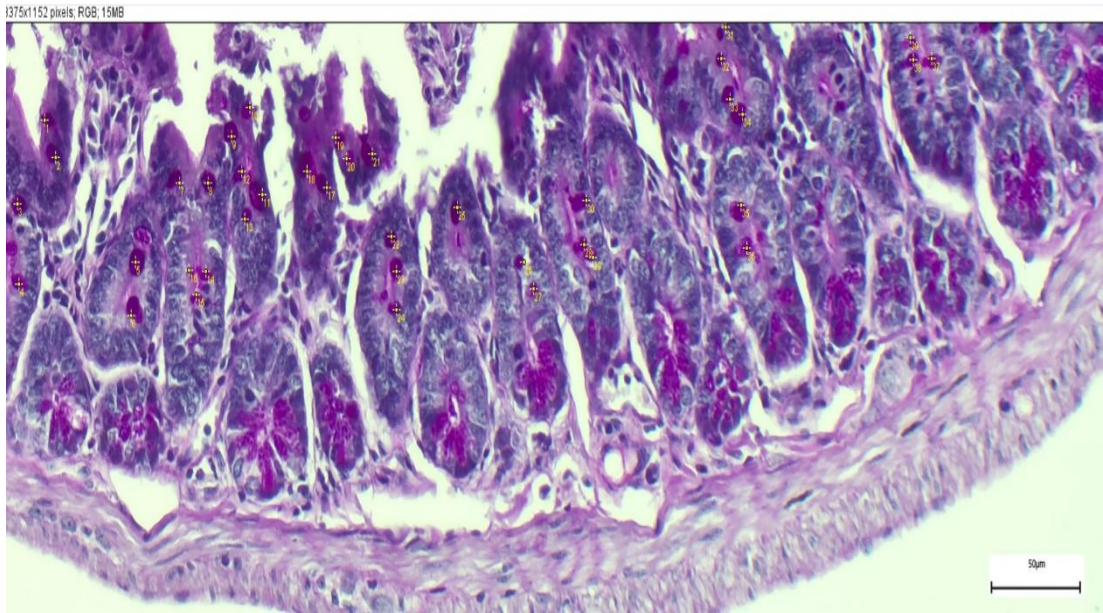
3.4.2. Masson Trikrom Boyama Metodu

Bağ doku ve kollajen miktarının değerlendirildiği Masson Trikrome boyaması için hazır boya kiti (Masson Trichrome with aniline Blue, Bio-Optica, Milano, İtalya), üretici firma protokolüne göre uygulanmıştır. Sonuçlarda, mavi boyalı bağ doku

bölgeleri gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede bağırsak kesitlerinin aynı bölgeleri kendi aralarında değerlendirilmiştir.

3.4.3. Periodik Asit Schiff (PAS) Metodu

Goblet hücrelerinin sayımı için yapılan PAS boyamasında hazır boya kiti (PAS-Periodic acid Schiff, Hotchkiss-Mc Manus, kit for AUS240, Bio-Optica, Milano, İtalya), üretici firma protokolüne göre uygulanmıştır. İleum ve kolonlardaki pozitif hücrelerin sayımında Image J 1.46r (National Institutes of Health, Bethesda MD) programı kullanılmıştır. Sayım için 20X objektif alanındaki tüm pozitif hücreler tek tek işaretlenerek programın bu hücreleri sayması sağlanmıştır. Bu işlem hem ileum hem de kolonlarda her grup için 10 kesite uygulanmıştır (**Şekil 3.3**). Böylece elde edilen sayıların istatistik analizi yapılarak gruplar arasındaki farklılık belirlenmiştir.



Şekil 3.3. PAS pozitif goblet hücrelerinin Image J programı ile işaretlenmesi ve sayımı, sarı noktaların her biri bir hücreyi ve yanlarındaki sayı da hücre sayısını göstermektedir. **PAS:** Periodik Asit Schiff.

3.5. Gaita Örneklerinin Toplanması ve Mikrobiyota Analizi

3.5.1. Gaita Örneklerinin Toplanması

Deney hayvanları boş otoklavlanmış kafeslere yerleştirildikten sonra normal dışkılamasına izin verilmiş ve hayvan başına ilk iki dışkı peleti steril bir kürdan

kullanılarak 1,5 ml'lik steril Eppendorf tüpüne alınmıştır. Tüp kapağı sıkı bir şekilde kapatılarak saklanmış ve her bir fare için kürdan değiştirilmiştir. Toplam 25 dışkı örneği 1,5 mL mikrosantrifüj tüplerine tartılarak alikotlanmış, hemen -80°C dondurucuya yerleştirilmiştir.

3.5.2. DNA İzolasyonu

Saklanan dışkı örneklerinden DNA izolasyonu, DNeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kitin protokolü özetle şu şekildedir: 25 mg gaita örneği cam boncuklu PowerBead tüplere alınarak üzerine doku lizis solüsyonu eklenmiş ve çok kısa süre vorteks cihazında karıştırılmıştır. Daha sonra 24'lü vorteks adaptörüne yerleştirilerek (Vortex-Genie 2) maksimum hızda 10 dk vortekslenmiştir. Temiz süpernatant 2ml'lik mikrosantrifüj tübüne transfer edilmiştir. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 15.000 gravite (g)'de santrifüjlendikten sonra süpernatant katı pelete dokunmadan temiz olarak pipetör ile çekilmiş, ardından temiz mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır (yaklaşık 500-600 µL). İnhibitörlerin elimine edilmesi sonrası örnekler spin filtreli tüplere alınmış ve 15000 g x 1 dk santrifüj edilmiştir. Yıkama basamakları sonrası membrana bağlanan DNA 50 µL elüsyon tamponu ile elüe edilmiş, spin tüpten çıkarılan DNA ileri aşamalara hazır hale getirilmiştir. DNA miktarı ve saflığı Nanodrop spektrofotometre ile ölçülmüştür. DNA örnekleri çalışma gününe kadar -20°C'de saklanmıştır. DNA izolasyonu uzman mikrobiyolog ile araştırmacı tarafından birlikte yapılmıştır.

3.5.3. Kütüphane Oluşturma ve Gen Dizileme

Günümüzde mikrobiyal ekosistemlerin bileşimini ve işleyişini ortaya koymak için en önemli araç, 16S ribozomal RNA geninin yeni nesil dizileme yöntemiyle analiz edilmesidir. Yeni nesil dizileme, taksonomik ilişkileri değerlendirmek için 16S rRNA geninin yalnızca küçük ama oldukça değişken bölgelerine bakmaktadır. Bunlar arasında V3–V4 bölgesi muhtemelen en sık kullanılanıdır (162).

Deney hayvanlarının dışkı örneklerinden izole edilen genomik DNA'nın 16S rRNA gen profili, 16S rRNA geninin V3-V4 bölgelerini hedef alan yeni nesil dizileme yöntemiyle analiz edilmiştir. 16S rRNA V3-V4 bölgesi (466 bp) 341F (5'-

CCTAYGGGRBGCASCAG-3') ve 806R (5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3') primerleri ve her örnek için farklı barkod diziler kullanılarak PCR ile amplifiye edilmiştir. Özgün amplikonların varlığı %2 agaroz jel elektroforezinde 466 bp bant varlığı tespit edilerek konfirme edilmiştir.

Illumina adaptör ligasyonu ve pürifikasyon sonrası amplikon kütüphanesi oluşturulmuştur (Nextera XT Index Primers, Illumina). Amplikon kütüphanesi kalite kontrol basamakları ve kantitasyonu sonrası V3-V4 bölgesinin sekansı Illumina NovaSeq 6000 platformunda 250 bp çift yönlü okuma hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Sekans sonrası ham sekans verileri (her örnek için çift yönlü okumalar) kaydedilmiştir.

3.5.4. Biyoinformatik Analizler

Ham verilerin işlenmesi ve biyoinformatik analizler QIIME 2 (versiyon 2022.11) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (163). Sekans okumalarından primer ve barkod dizileri q2-cutadapt kullanılarak silinmiştir. Sekans okumalarında kalite kontrol basamakları ve kimerik okumaların elenmesi QIIME 2 üzerinde Bölücü Amplikon Düzeltme Algoritması-2 (DADA-2: Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve Amplikon Dizi Varyantlarına (ASV: Amplicon Sequence Variants) ait özellik tabloları elde edilmiştir. DADA2, sekanslama hatası düzeltme algoritmasına dayanmaktadır (164). Sekans okumaların hizalanması ve filogenetik ağaç MAFFT algoritması ile elde edilmiştir. Elde edilen ASV'ler SILVA veritabanı (Versiyon 138, December 2019) kullanılarak haritalanmış ve taksonomik tablolar oluşturulmuştur. ASV tablolarında düşük ASV'ler filtrelenerek daha sonraki analizlere sadece ≥ 10 örnekte bulunan ve tüm örneklerde >15 bulunan ASV'ler dahil edilmiştir. Ayrıca tablolar ve sekanslardan mitokondriyal ve kloroplast okumaları filtrelenmiştir (165). Ham veriler elde edildikten sonra biyoinformatik okumalar uzman mikrobiyolog tarafından yapılmıştır.

Deney hayvanlarında grup içerisindeki mikrobiyal populasyon farklılıklarının incelenmesi için alfa çeşitlilik analizi gözlenen ASV, Shannon indeksi ve faith pd indeksi ile belirlenmiştir. Shannon indeksi yoğunluk ve çeşitliliği bir arada içermektedir. Gruplar arasındaki kompozisyon farklılıklarını incelemek için beta

çeşitlilik analizi yapılmış, Bray-Curtis, ağırlıklı ve ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümleri ve temel koordinat analizi (PCoA: Principal Coordinate Analysis) ile görüntülenmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Farelerin ileum ve kolonlarında histopatolojik skorlar, villus boyu, villus kalınlığı, kript uzunluğu, PAS pozitif hücre sayısı, serum IL-6, IL-10 ve fekal Lcn-2 seviyesi, vücut ağırlığı, yem ve su tüketimi gibi değişkenlerin istatistiksel analizi için SPSS 23.0 programı (Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Sonuçlar, ortalama (\bar{X})±standart sapma (SS) olarak gösterilmiştir.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası ortalamalarının karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ve tekrarlı ölçümler varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen durumlarda Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Gruplar arası farkların karşılaştırılmasında Tukey testi kullanılmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Mikrobiyota kompozisyon analizinde grup içi ve gruplar arası uzaklıklar için karşılaştırmalar permütasyonel çok değişkenli varyans analizi (PERMANOVA) ile yapılmıştır. Gruplar arası relatif taksonomik dağılımlar belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı baskın taksonomik gruplar Doğrusal Diskriminant Analizi Etki Büyüklüğü (LEfSe: Linear discriminant analysis effect size) ile $p<0,05$ ve Doğrusal Diskriminant Skoru (LDA: Linear discriminant analysis) skor >2 baz alınarak belirlenmiş, Kladogram ve LDA skorları ile sunulmuştur (166).

4. BULGULAR

Araştırma kapsamına grup başına 6 adet olmak üzere toplam 30 adet C57Bl/6 erkek fare dahil edilmiştir. Araştırma kontrol, CMC, lesitin, CMC+inülin ve lesitin+inülin olmak üzere 5 gruptan oluşmaktadır. Kontrol grubu: kontrol diyeti (içme suyu), CMC grubu: içme suyuna %1w/v oranında sodyum karboksi metil selüloz (CMC) eklenen, lesitin grubu: içme suyuna %1w/v oranında lesitin eklenen, CMC+inülin grubu: içme suyuna %1w/v oranında CMC ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen, lesitin+inülin grubu: içme suyuna %1w/v oranında lesitin ve 5 g/kg vücut ağırlığı başına inülin eklenen diyeti tüketmiştir.

4.1. Vücut Ağırlığı Ölçümü, Yem ve Su Tüketimi

Farelerin 12 hafta boyunca vücut ağırlığı değişimleri, günlük ortalama yem ve su tüketimleri **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir. Çalışmadaki farelerin başlangıç ağırlıkları ortalama $16,7 \pm 2,27$ g'dır. Gruplar arasında farelerin başlangıç vücut ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Farelerin başlangıca göre ağırlık değişimleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Farelerin 12 hafta boyunca vücut ağırlığı değişimleri **Şekil 4.1**'de gösterilmiştir.

Farelerin ortalama su tüketimleri $7,3 \pm 1,15$ ml ($6,7-7,8$ ml/gün) ve emülgatör alımları $72,7 \pm 11,04$ mg ($67,3-77,6$ mg)'dır. Su tüketimleri ve su tüketimleri üzerinden hesaplanan emülgatör alımları açısından ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (**Tablo 4.1**).

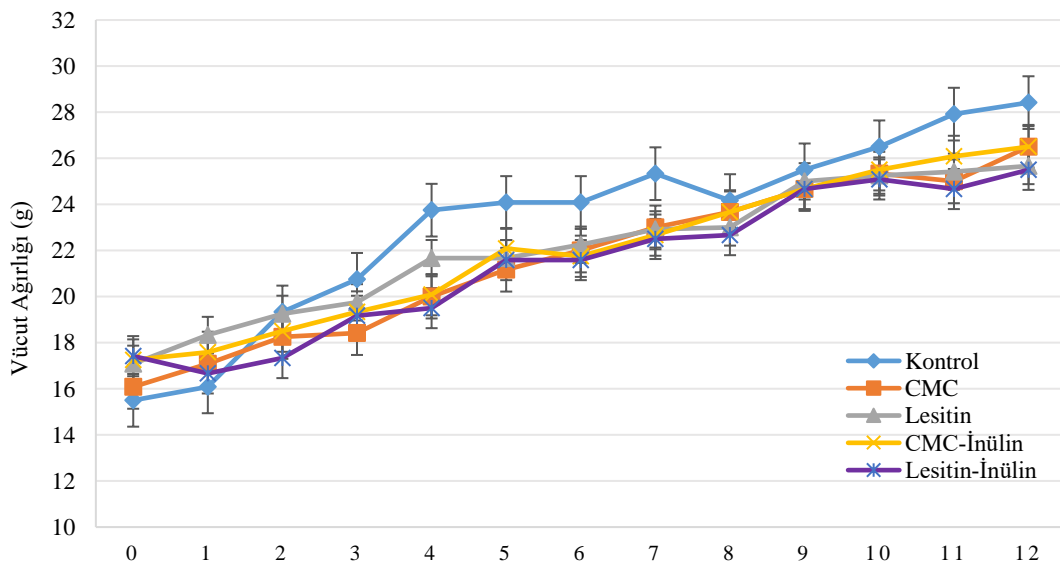
Farelerin 12 hafta süresince ortalama yem tüketimleri değerlendirildiğinde, günlük ortalama yem tüketimlerinin inülin eklenen gruplarda (CMC+inülin ve lesitin+inülin grupları için sırasıyla; $2,9 \pm 0,66$ g ve $3,1 \pm 0,63$ g) inülin eklenmeyen gruplardan (CMC ve lesitin grupları için sırasıyla; $3,5 \pm 0,59$ g ve $3,4 \pm 0,45$ g) daha düşük olduğu ($p = 0,001$); diğer grupların (kontrol, CMC ve lesitin) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Yem tüketim miktarlarıyla orantılı olarak enerji ve makro besin ögesi alımları da inülin eklenen

gruplarda diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur ($p=0,001$). Ayrıca inülin eklenmesi grupların posa alımlarını arttırmıştır ($p<0,001$) (Tablo 4.1, Şekil 4.2).

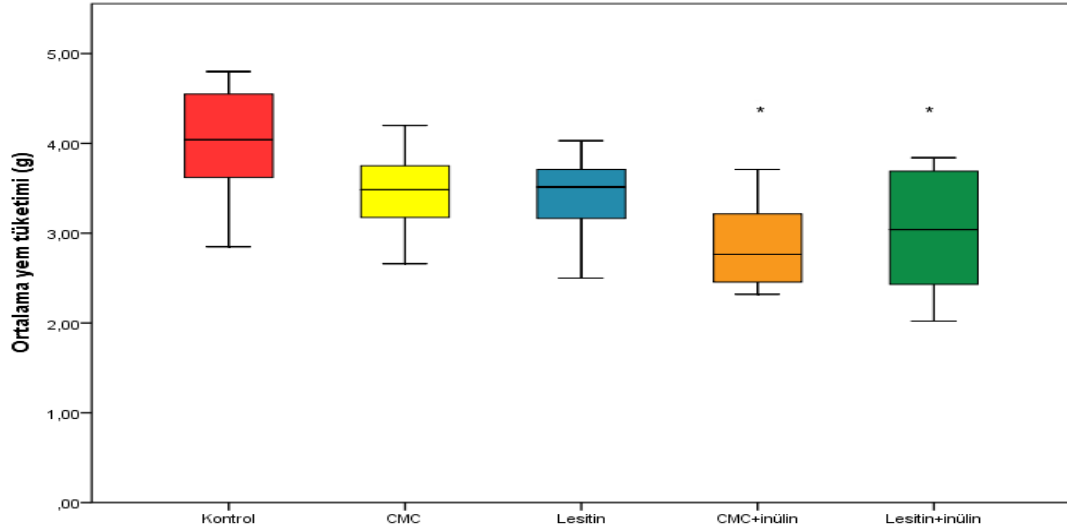
Tablo 4.1. Gruplardaki deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, günlük yem, su tüketimleri, besin öğeleri ve emülgatör alımları.

Vücut ağırlığı, yem ve su tüketimi	Kontrol (n=6)	CMC (n=6)	Lesitin (n=6)	CMC+ İnülin (n=6)	Lesitin+ İnülin (n=6)	p
Vücut Ağırlığı (Başlangıç) (g)	16,8±2,16	16,1±2,01	17,2±2,88	17,3±2,12	16,8±1,03	0,886
Vücut Ağırlığı (Son) (g)	28,2±1,29	26,5±1,95	26,29±2,27	26,5±2,14	25,5±0,17	0,137
Vücut ağırlığı değişimi (g)	11,4±2,92	10,4±2,13	9,0±1,14	9,3±2,62	8,7±0,98	0,051
Yem (g/gün)	4,0±0,59 ^a	3,6±0,59 ^a	3,5±0,30 ^a	2,9±0,66 ^b	3,1±0,64 ^b	0,001
Enerji (kkal/gün)	13,7±2,17 ^a	12,1±2,01 ^a	11,6±1,54 ^a	10,0±2,24 ^b	10,2±2,19 ^b	0,001
Karbonhidrat (g/gün)	2,2±0,35	2,0±0,33	1,9±0,25	1,6±0,36	1,7±0,36	0,001
Protein (g/gün)	0,8±0,12	0,7±0,11	0,7±0,09	0,56±0,13	0,57±0,12	0,001
Yağ (g/gün)	0,2±0,03	0,2±0,03	0,2±0,02	0,1±0,03	0,1±0,03	0,001
Posa (g/gün)	0,2±0,02	0,1±0,02	0,1±0,02	0,2±0,03	0,2±0,04	<0,001
Su (ml/gün)	7,3±1,39	6,7±0,84	7,6±1,08	7,0±1,17	7,8±1,11	0,199
Emülgatör (mg/gün)	-	67,3±8,43	75,6±10,81	70,3±11,68	77,6±11,12	0,083

Vücut ağırlığı değişimi, Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi ile diğer değerler tek yönlü varyans analizi ile belirlenmiş, ikili karşılaştırmalar için Bonferroni post-hoc testi kullanılmıştır. Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı belirtmektedir. CMC: Karboksümetil selüloz.



Şekil 4.1. Farelerin haftalara göre vücut ağırlığı değişimleri (g).



Şekil 4.2. Farelerin gruplara göre ortalama yem tüketimleri (g). *Diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($p<0,05$).

4.2. Histopatolojik Bulgular ve İnflamatuvar Parametreler

İnce bağırsakların histopatolojik incelemesinde kontrol grubunda normal mikroskopik görünüm belirlenmiştir. CMC ve lesitin tüketen grupların ince bağırsak histopatolojik skorları kontrole göre daha yüksektir ($p<0,01$). Grupların özellikle kolon histolojik skorları CMC ($1,3\pm0,21$) ve lesitin ($1,7\pm0,21$) gruplarında kontrol, CMC+inülin ve lesitin+inülin gruplarına göre (sırasıyla $0,2\pm0,16$; $0,5\pm0,22$; $0,8\pm0,16$) daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (**Tablo 4.2**).

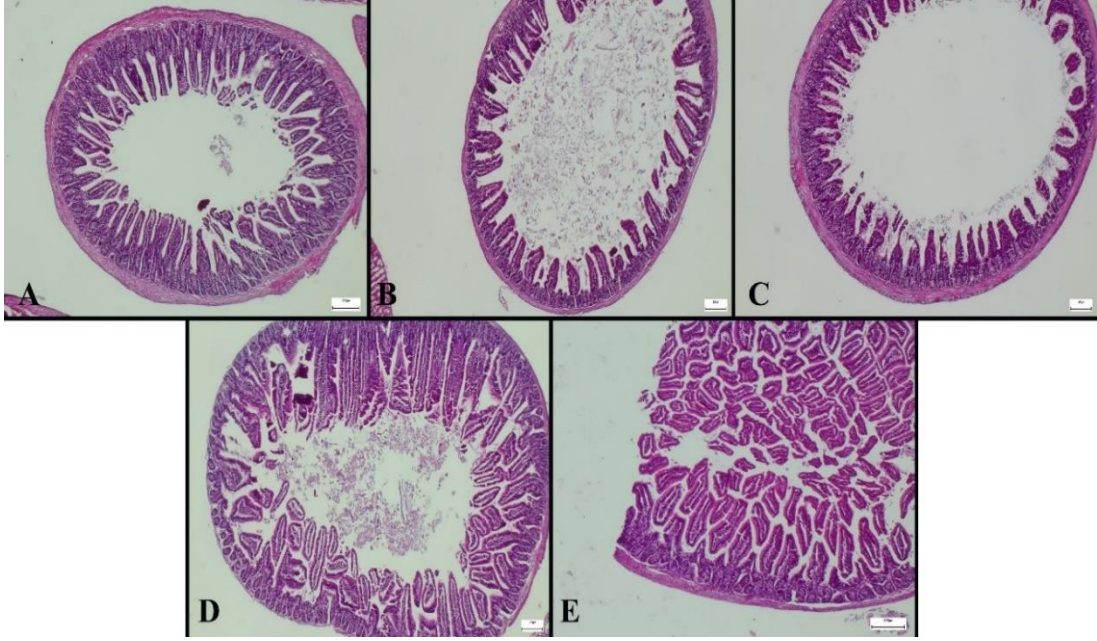
İleumların villus uzunlukları CMC ($265,7\pm10,36 \mu\text{m}$) ve lesitin ($250,3\pm7,64 \mu\text{m}$) gruplarında kontrol ($399,8\pm9,58 \mu\text{m}$), CMC+inülin ($291,0\pm6,25 \mu\text{m}$) ve lesitin+inülin ($298,8\pm4,79 \mu\text{m}$) gruplarından daha kısa bulunmuştur ($p<0,001$). Kolon villus uzunlukları da benzer şekilde CMC ve lesitin gruplarında diğer gruplardan düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Kript uzunluklarının hem ileum hem de kolonda kontrol grubuna göre CMC ve lesitin gruplarında azaldığı, inülin eklenen gruplarda ise kript uzunluklarının arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$) (**Tablo 4.2**).

Histolojik bulguların patolojik görüntülerinde de CMC ve lesitin grubundaki farelerin ileum villuslarında kısılma ve kütleşmeler gösterilmiştir. CMC ve lesitin verilen farelere inülin müdahalesi yapıldığında villuslarda uzama gözlenmiştir (**Şekil 4.3-4.5**).

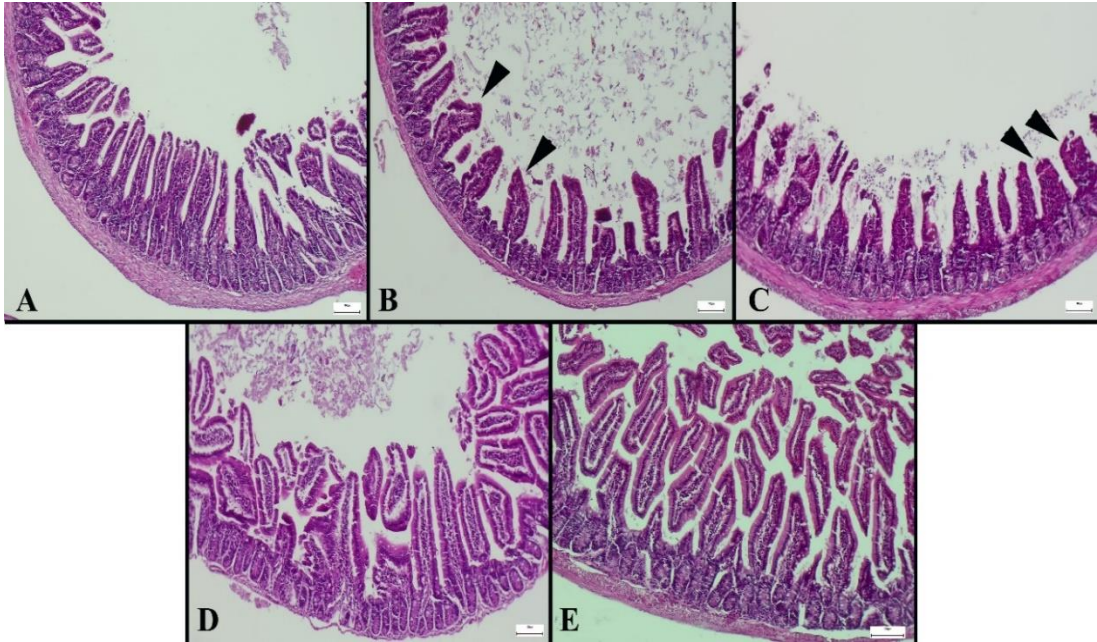
Tablo 4.2. İncelenen histopatolojik ve inflamatuvar parametrelerin sonuçları.

Histopatolojik ve inflamatuvar Parametreler		Kontrol (n=6)	CMC (n=6)	Lesitin (n=6)	CMC+İnülin (n=6)	Lesitin+İnülin (n=6)	p
Histopatoloji skorları	İleum	0,0±0,0 ^a	1,0±0,25 ^b	1,0±0,25 ^b	0,5±0,22 ^a	0,7±0,21 ^b	<0,01
	Kolon	0,2±0,16 ^a	1,3±0,21 ^b	1,7±0,21 ^b	0,5±0,22 ^{ac}	0,8±0,16 ^c	<0,001
Villus uzunluğu (µm)	İleum	399,8±9,58 ^a	265,7±10,36 ^b	250,3±7,64 ^b	291,0±6,25 ^c	298,8±4,79 ^c	<0,001
	Kolon	103,0±4,65 ^a	83,3±1,11 ^b	77,8±3,12 ^b	90,3±0,91 ^c	87,0±6,16 ^c	<0,001
Villus kalınlığı (µm)	İleum	43,5±2,20 ^a	56,2±1,07 ^b	57,5±1,17 ^b	43,3±0,66 ^a	41,7±1,25 ^a	<0,001
	Kolon	48,7±1,72 ^a	54,3±0,55 ^c	53,3±1,74 ^{bc}	49,2±0,70 ^a	50,0±0,70 ^{ab}	<0,001
Kript uzunluğu (µm)	İleum	67,3±2,94 ^a	42,8±3,06 ^b	30,7±2,58 ^c	52,7±2,80 ^d	57,8±1,47 ^e	<0,001
	Kolon	27,8±5,49 ^a	15,3±2,50 ^{bc}	11,7±1,86 ^b	17,0±2,09 ^c	16,8±1,94 ^c	<0,001
Goblet hücre sayısı	İleum	55,8±2,24 ^a	40,5±0,88 ^b	42,3±1,14 ^b	54,5±0,56 ^a	51,0±2,38 ^a	<0,001
	Kolon	108,8±2,35 ^a	89,0±0,63 ^b	92,5±1,47 ^b	102,5±1,23 ^c	103,5±1,66 ^c	<0,001
Lcn-2 (ng)	Gaita	4,7±3,49	9,7±3,29	5,7±3,77	4,1±2,98	6,2±3,54	0,077
IL-6 (pg/ml)	Serum	105,8±8,41	96,3±11,73	101,5±10,10	111,6±2,98	102,3±7,42	0,063
IL-10 (pg/ml)	Serum	261,2±40,52 ^a	179,5±29,47 ^b	186,1±25,1 ^b	238,6±40,52 ^a	220,8±32,58 ^a	0,001

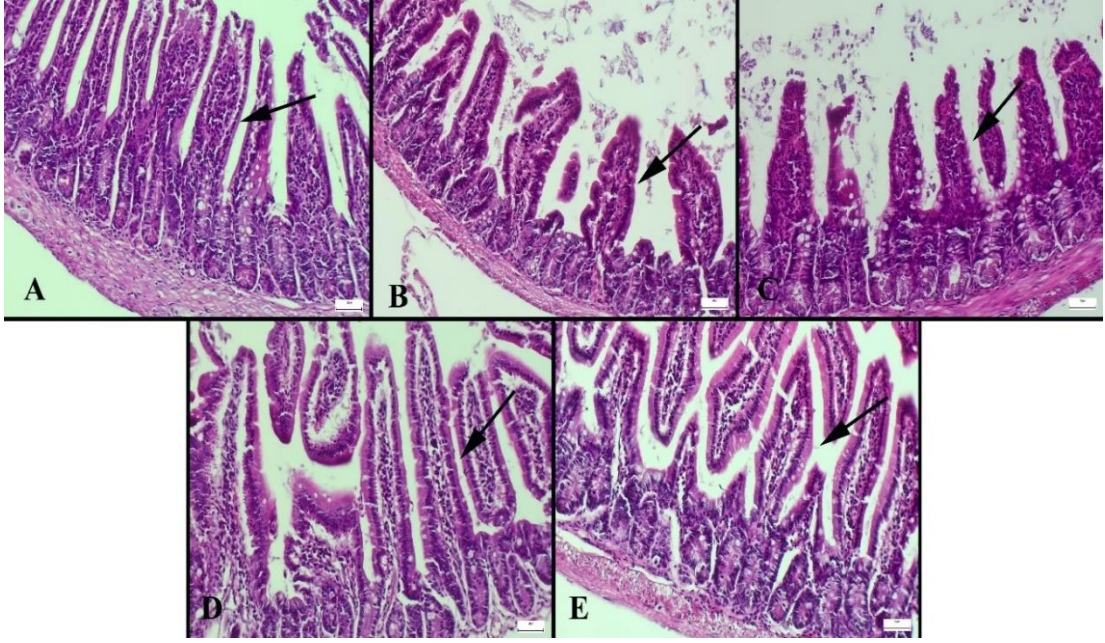
Tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Aynı satırda üst simgeleri farklı olan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). **CMC**: Karboksimetil selüloz, **Lcn-2**: Lipokalin-2, **IL-6**: İnterlökin-6, **IL-10**: İnterlökin-10.



Şekil 4.3. Gruplara göre ileumların histopatolojik görünüşleri. (A) Kontrol grubunda normal bağırsak histolojisi, (B) CMC grubunda bir farede lümeni genişlemiş villusları kısaltmış ileumun görünümü, (C) Lesitin grubunda bir farede ileumda kısaltmış ve kütleşmiş villusların görünümü, (D) CMC+inülin grubunda bir farenin villusların uzamış görünümü, (E) Lesitin+inülin grubunda bir farede villusların uzamış görüntüsü, HE, Barlar=200µm. **CMC:** Karboksi metil selüloz.

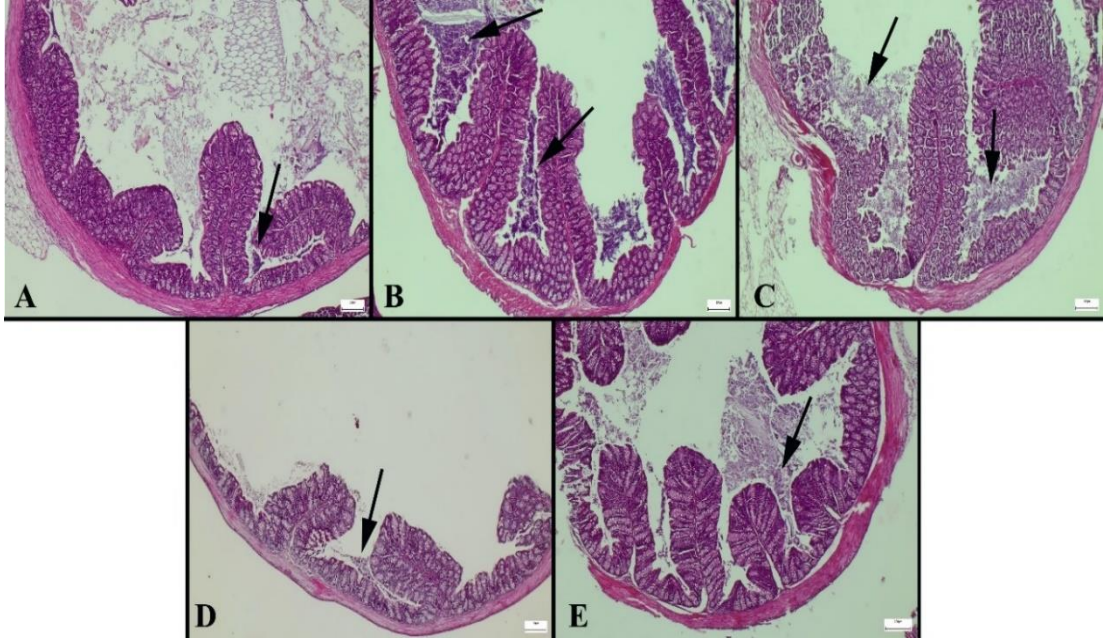


Şekil 4.4. Gruplara göre ileumların histopatolojik görünüşlerinin büyütülmüş görünümü. CMC ve lesitin gruplarında villuslarda kısalma ve kütleşme (ok başları), HE, Barlar=100µm. **CMC:** Karboksi metil selüloz.

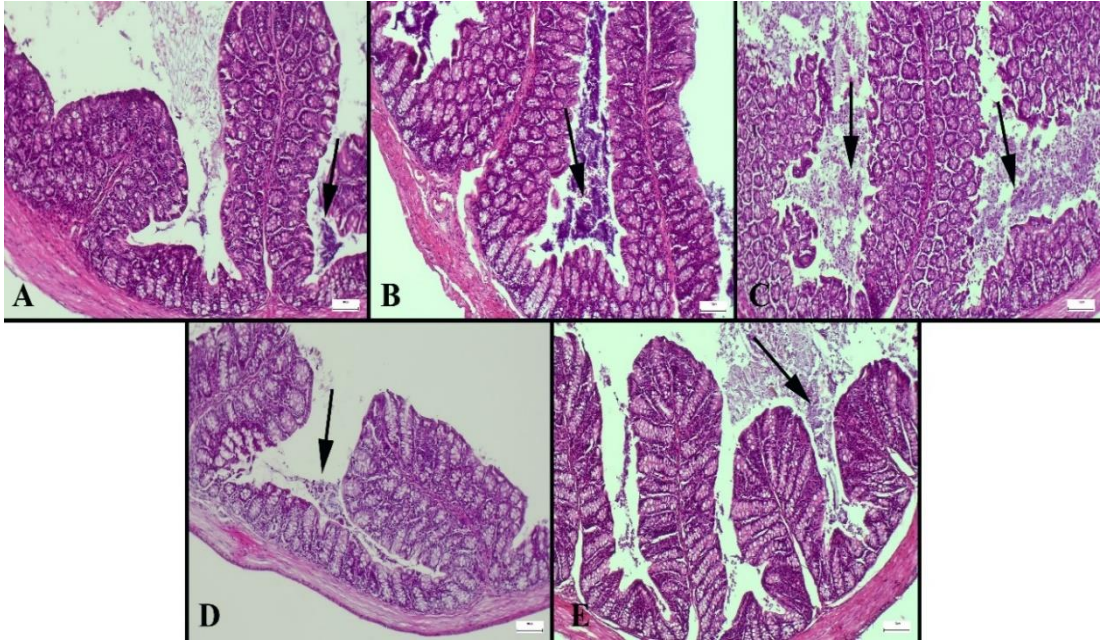


Şekil 4.5. Gruplara göre ileum villuslarının (oklar) büyük büyütmedeki görünümü: (A) Kontrol, (B) CMC grubu, (C) Lesitin grubu, (D) CMC+inülin grubu, (E) Lesitin+ inülin grubu, HE, Barlar=50µm. **CMC:** Karboksi metil selüloz.

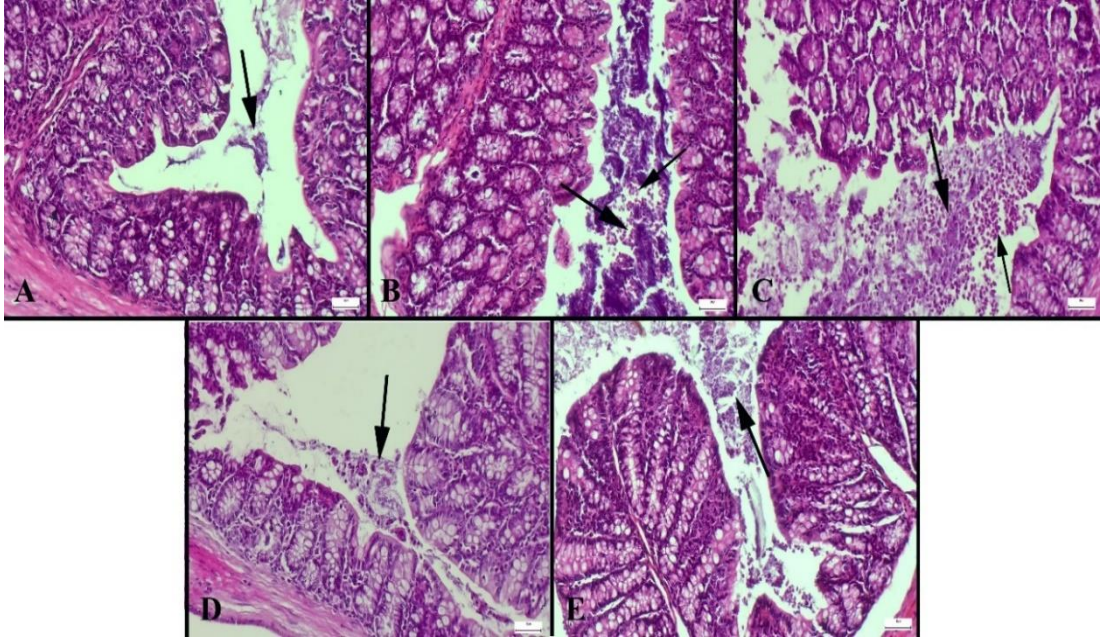
Gruplardaki farelerin kolonları incelendiğinde ileuma göre daha belirgin değişiklikler saptanmıştır. Kontrol grubunda bağırsak lümenlerinde az miktarda bakteri kümesi gözlenirken, CMC ve lesitin gruplarında bağırsak florasının önemli ölçüde bulunduğu belirlenmiştir. Bu gruplarda yoğun bakteri kümelerinin yanı sıra çok sayıda protozoonun da bağırsak içeriğinde bulunduğu gözlenmiştir. İnülin uygulamasının hem CMC hem de lesitin verilen gruplarda bakteri yoğunluğunu azalttığı, ancak tamamen düzelmeye sağlamadığı görülmüştür (Şekil 4.6-4.8).



Şekil 4.6. Gruplara göre kolonların ve lümenlerindeki bakteri yoğunluğunun histopatolojik görünümü. (A) Kontrol grubunda normal bağırsak florası ve bakteri kümeleri (oklar), (B) CMC grubunda bağırsak lümeninde yoğun şekilde artmış bakteri kümelerinin (oklar) görünümü, (C) Lesitin grubunda bir farenin kolonlarında belirgin şekilde artmış bakteri kümeleri (oklar), (D) CMC+inülin grubunda bakteri yoğunluğunda (oklar) belirgin şekilde azalma, (E) Lesitin+inülin grubunda kolonlardaki bakteri yoğunluğunda önemli ölçüde azalma, HE, Barlar=200 μ m. CMC: Karboksi metil selüloz.



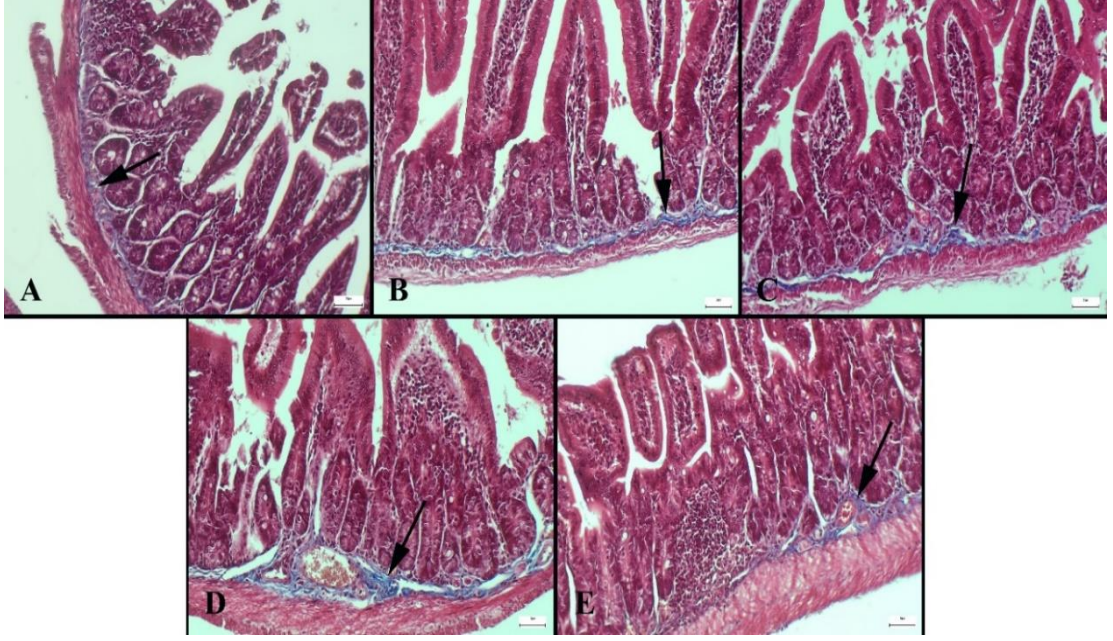
Şekil 4.7. Gruplara göre kolonların ve lümenlerindeki bakteri yoğunluğunun büyütülmüş görünümü, HE, Barlar=100 μ m.



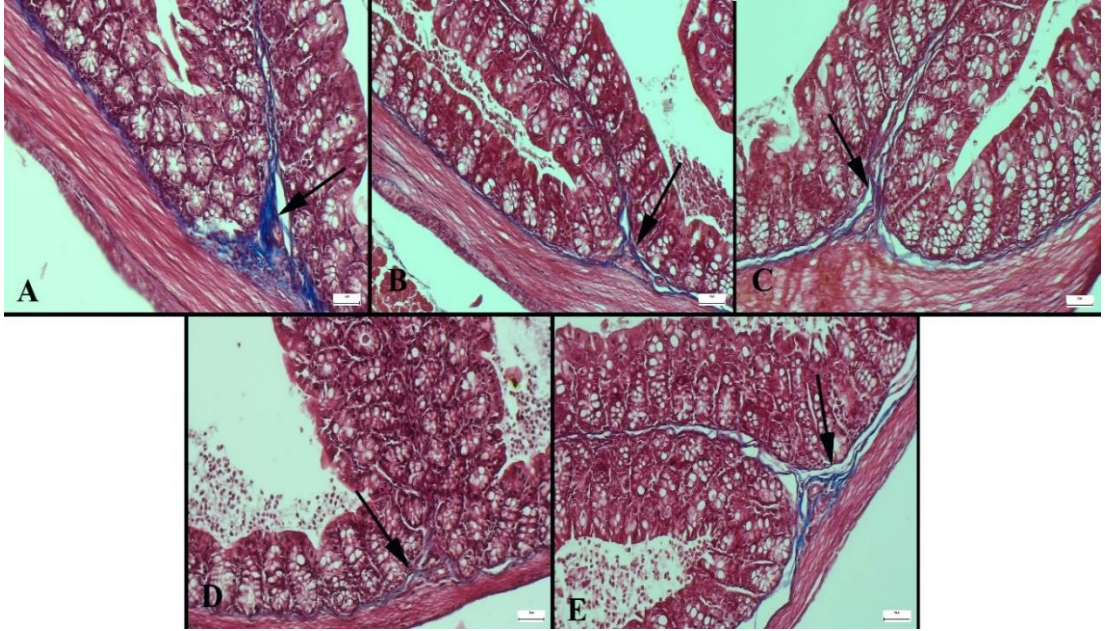
Şekil 4.8. Kolon mukozası ve lümen içeriğinin yakından görünümü. (A) Kontrol grubunda lümeninde az miktarda bakteri kümeleri, (B) CMC grubunda lümeninde yoğun bakteri kümeleri (kalın ok) ve yoğun protozoonlar (ince oklar), (C) Lesitin grubunda bakteri kümeleri (kalın ok) ve protozoonlarda yoğun şekilde artış (ince ok), (D) CMC+inülin grubunda bakteri kümelerinde belirgin bir azalma, (E) Lesitin+inülin grubunda bir farenin kolonunda bakteri kümeleri ve protozoonlarda belirgin bir azalma, HE, Barlar=50µm. CMC: Karboksi metil selüloz.

Bağırsakların bağ doku miktarlarının değerlendirilmesi amacıyla yapılan Masson trikrom boyamasında kontrol grubuna kıyasla karboksimetil selüloz ve lesitin gruplarında bağ dokusunda azalma belirlenmiştir. İnülin uygulamasının ise azalmış bağ dokusunda hafif de olsa artış sağladığı gözlenmiştir (Şekil 4.9).

Grupların kolonları incelendiğinde kontrol grubunda belirgin olan bağ doku tabakasının CMC ve lesitin gruplarında belirgin ölçüde azaldığı, inülin uygulamasının kolondaki bağ doku tabakası üzerine anlamlı etkisinin olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.10).

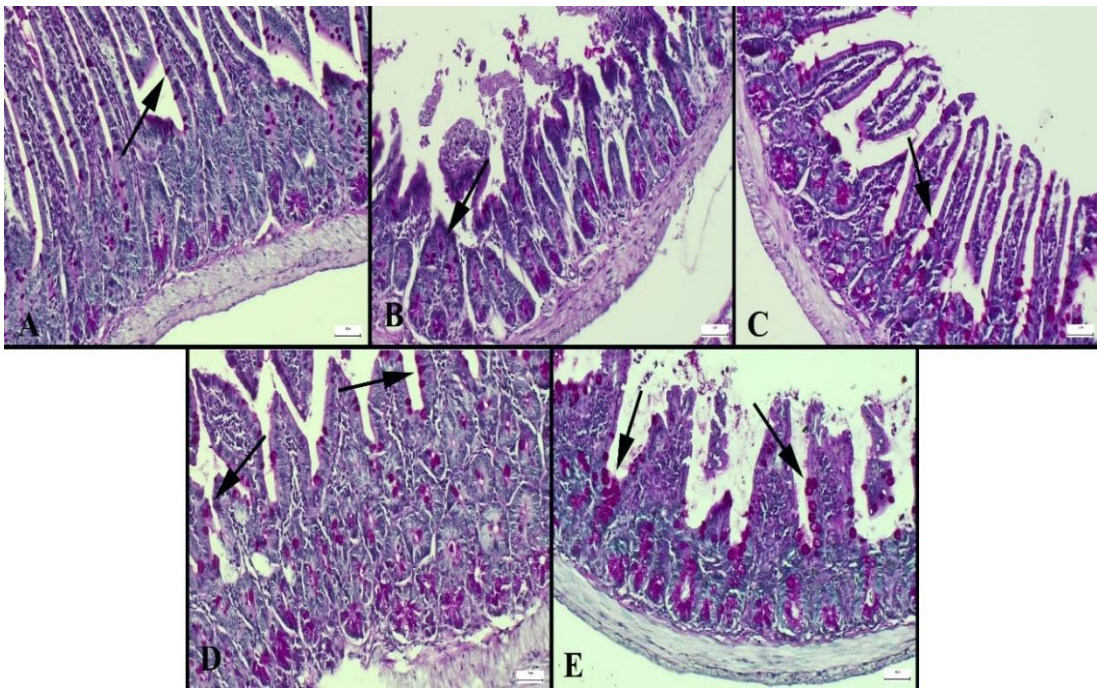


Şekil 4.9. İleumların Masson trikrom boyama görünüşleri, (A) Kontrol grubunda belirgin bağ dokusu ve kollajen görünümü (ok), (B) CMC grubunda submukozada bağ dokuda incelmeye (ok), (C) Lesitin grubunda bağ dokusu ve kollajende incelmeye (ok), (D) CMC+inülin grubunda bağ dokusu tabakasında kalınlaşma (ok), (E) Lesitin+inülin grubunda bağ dokusu tabakasında hafif artış (ok), Barlar=50µm. CMC: Karboksi metil selüloz.

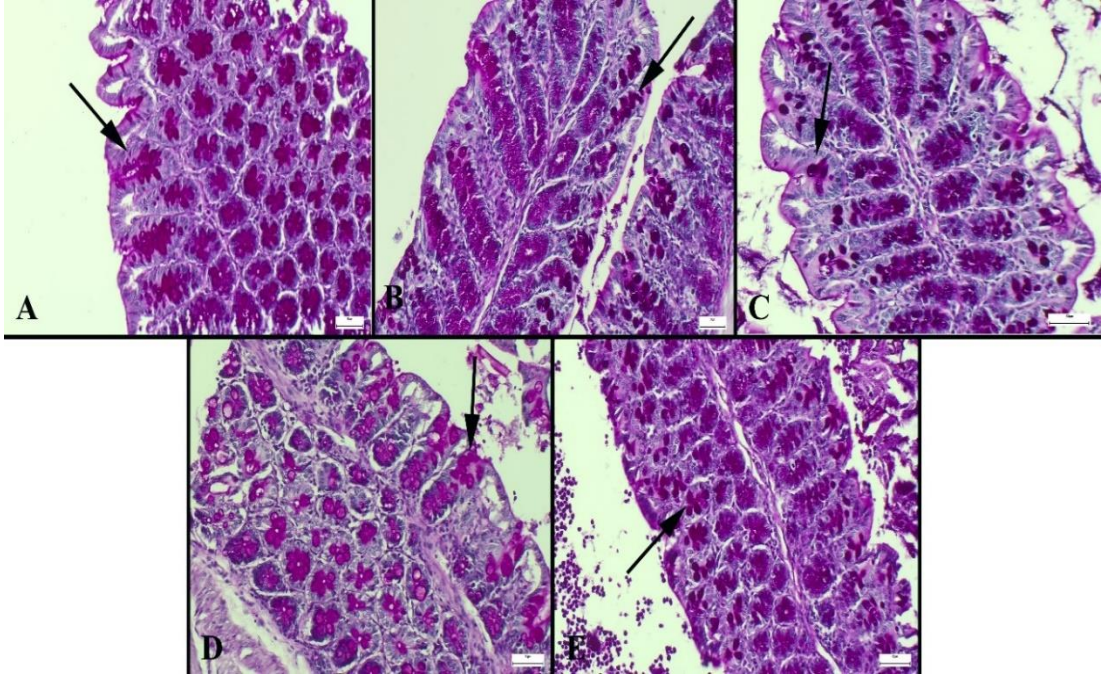


Şekil 4.10. Kolonların Masson trikrom boyama ile bağ dokusu görünüşleri, (A) Kontrol grubunda belirgin bağ dokusu ve kollajen görünümü (ok), (B) CMC grubunda submukozada bağ dokuda incelmeye (ok), (C) Lesitin grubunda bağ dokuda belirgin incelmeye (ok), (D) CMC+inülin grubunda bağ dokusu tabakasında incelmeye (ok), (E) Lesitin+inülin grubunda bağ dokusu tabakasında hafif artış (ok), Barlar=50µm. CMC: Karboksi metil selüloz.

PAS boyamasında goblet hücreleri parlak kırmızı ve belirgin bir şekilde görülmüştür. Grupların PAS boyamalarına göre ileum ve kolonlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CMC ve lesitin gruplarında goblet hücrelerinin sayılarının belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. CMC+inülin ve lesitin+inülin gruplarında inülin uygulamasının goblet hücre sayısını ve büyüklüğünü artırdığı dikkati çekmiştir (**Şekil 4.11, 4.12**). CMC ve lesitin tüketimi ile goblet hücre sayısının hem ileumda hem de kolonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı, inülin müdahalesinin bu durumu düzelterek goblet hücre sayısını artırdığı belirlenmiştir ($p<0,001$) (**Tablo 4.2**).

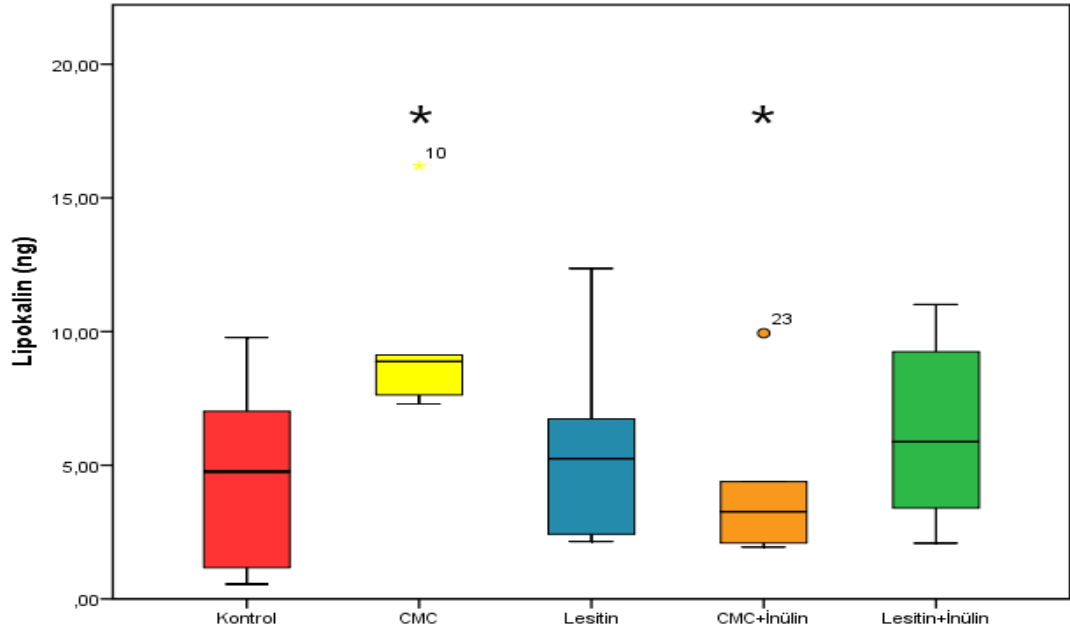


Şekil 4.11. Gruplara göre ileumların goblet hücrelerinin PAS boyama görüntüleri. (A) Kontrol grubunda normal görünüm ve sayıda goblet hücreleri (ok), (B) CMC grubunda belirgin şekilde azalmış goblet hücreleri (ok), (C) Lesitin grubunda azalmış goblet hücreleri (ok), (D) CMC+inülin grubunda artmış ve büyümüş goblet hücreleri (oklar), (E) Lesitin+inülin grubunda belirgin şekilde artmış ve büyümüş goblet hücreleri, PAS boyaması, Barlar=50µm. CMC: Karboksi metil selüloz.



Şekil 4.12. Grupların kolonlarında goblet hücrelerinin PAS boyama görüntüleri. (A) Kontrol grubunda normal görünüm ve sayıda goblet hücreleri (ok), (B) CMC grubunda belirgin şekilde azalmış goblet hücreleri (ok), (C) Lesitin grubunda azalmış goblet hücreleri (ok), (D) CMC+inülin grubunda artmış ve büyümüş goblet hücreleri (oklar), (E) Lesitin+inülin grubunda belirgin şekilde artmış ve büyümüş goblet hücreleri, PAS boyaması, Barlar=50µm. **CMC:** Karboksi metil selüloz.

Deney hayvanlarının serum ve gaita inflamatuvar parametrelerine ait istatistiksel sonuçlar **Tablo 4.2**'de gösterilmiştir. Serum IL-10 seviyesinin CMC (179,5±29,47pg/ml) ve lesitin (186,1±25,1 pg/ml) gruplarında kontrole göre (261,2±40,52 pg/ml) daha düşük olduğu, inülin müdahalesi ile artarak kontrol grubunun düzeyine yaklaştığı belirlenmiştir (sırasıyla; 238,6±40,52 pg/ml; 220,8±32,58 pg/ml) (p=0,001). Serum inflamatuvar belirteçlerden IL-6 ve fekal intestinal inflamasyon belirteci olan Lcn-2 seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05). Ancak CMC verilen grupta 9,7±3,29 ng olan fekal Lcn-2 seviyesinin, inülin eklenmesiyle 4,1±2,98 ng'a düştüğü ve sonucun ikili karşılaştırmada anlamlı olduğu belirlenmiştir (p=0,012) (**Tablo 4.2, Şekil 4.13**).

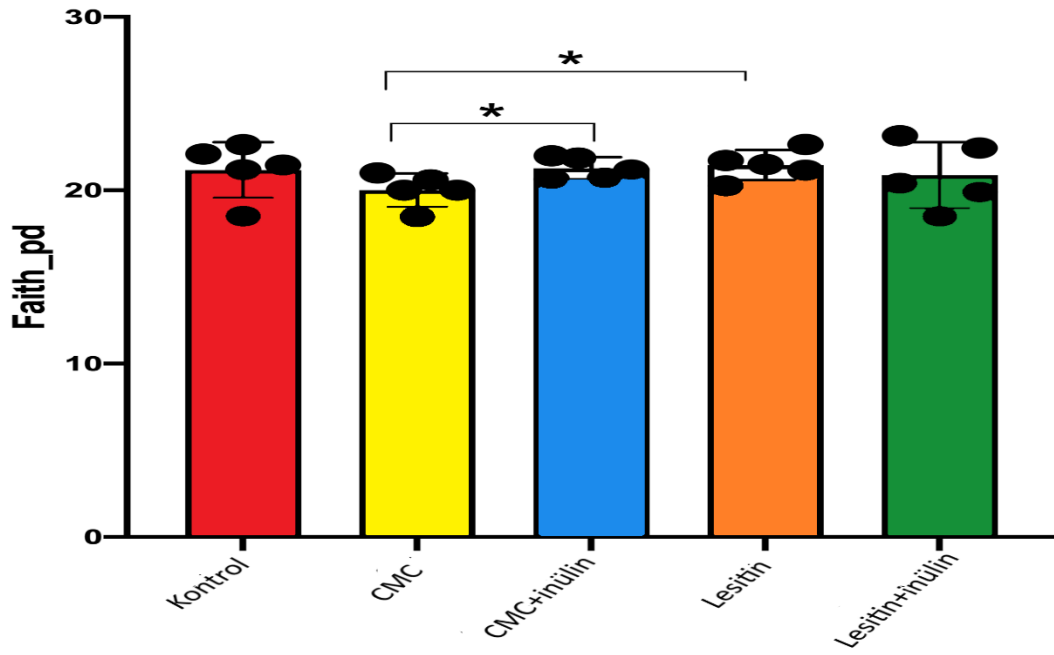


Şekil 4.13. Farelerin gruplara göre fekal lipokalın düzeyleri (ng). *Diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

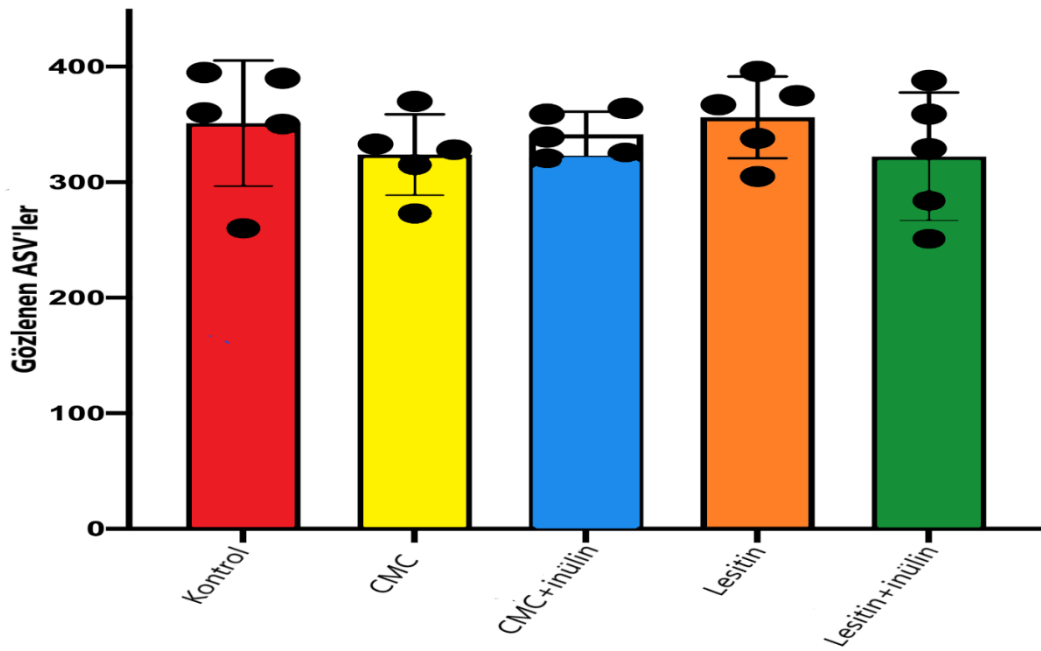
4.3. Mikrobiyota Analizi

4.3.1. Mikrobiyal Çeşitlilik Analizleri

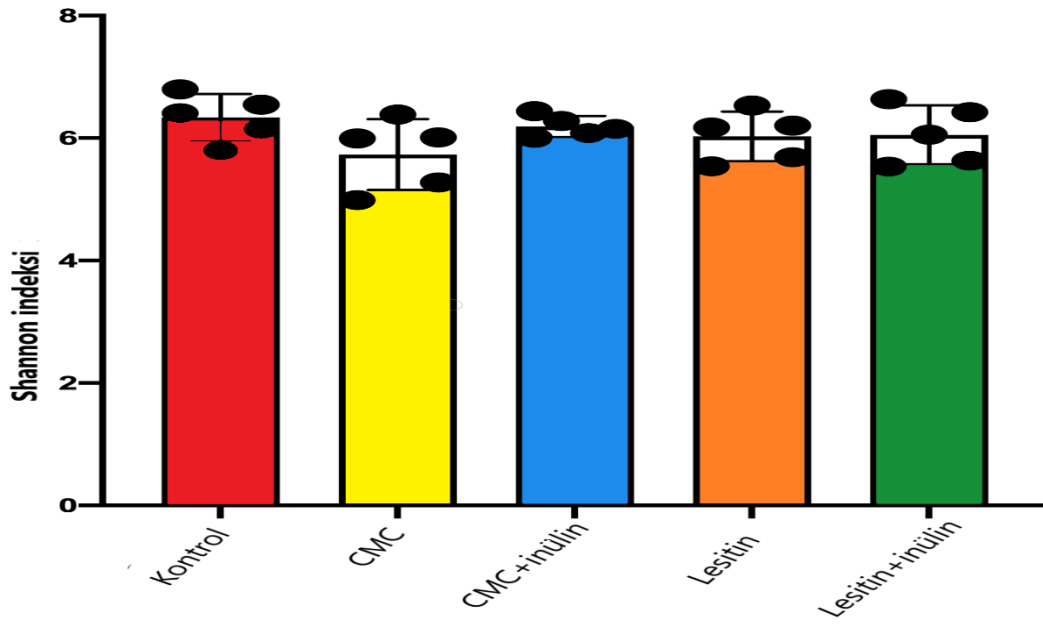
Kalite kontrol ve filtreleme basamakları sonrası 25 örnekte toplam 1,148,814 okuma elde edilmiştir. Örnek başı en düşük 28345, en yüksek ise 60283 okuma bulunmuştur. Gruplar arası çeşitlilik analizleri ASV düzeyi baz alınarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasında çeşitlilik ve dağılımın belirlenmesi için gözlenen ASV metrikleri, Shannon indeksi ve faith_pd metrikleri değerlendirilmiştir (**Şekil 4.14-4.16**). Gruplar arası gözlenen ASV'lerin dağılımı, zenginlik ve dağılımın birlikte değerlendirildiği Shannon indeksi bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Faith filogenetik çeşitlilik CMC grubunda hem lesitin hem de CMC+inülin grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p = 0,028$) (**Şekil 4.14**). Bu durumda CMC'nin filogenetik çeşitliliği azalttığı ve inülin uygulamasının ise artışa neden olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.14. Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Faith_pd metrikleri). *Diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir.



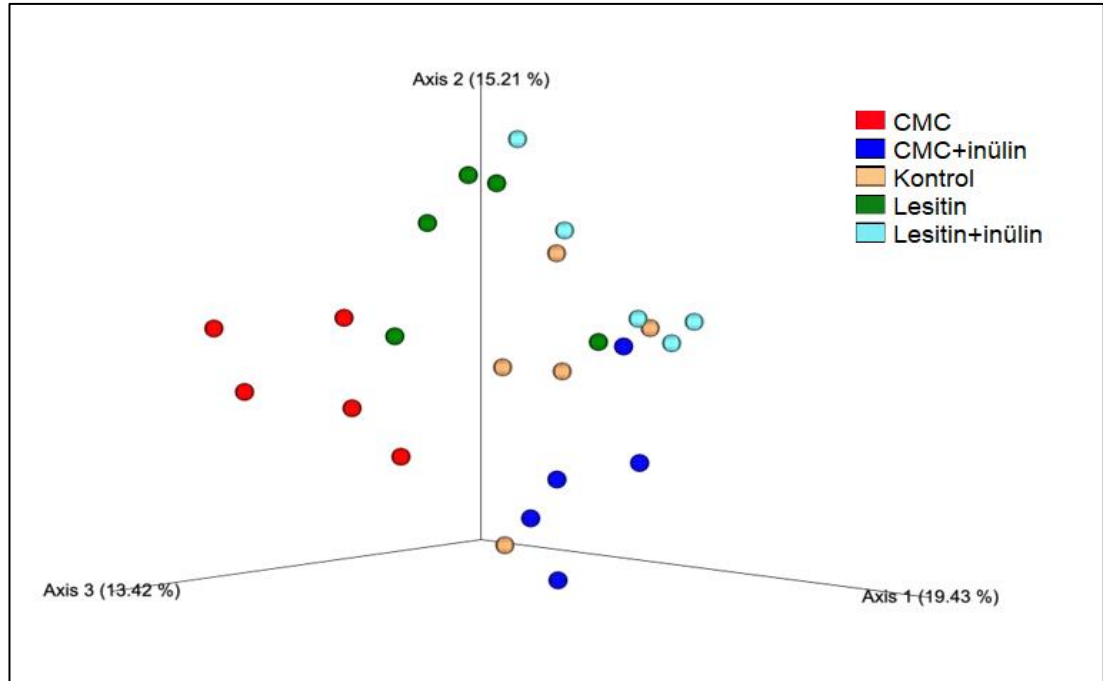
Şekil 4.15. Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Gözlenen ASV metrikleri). ASV: Amplikon sekans varyantları.



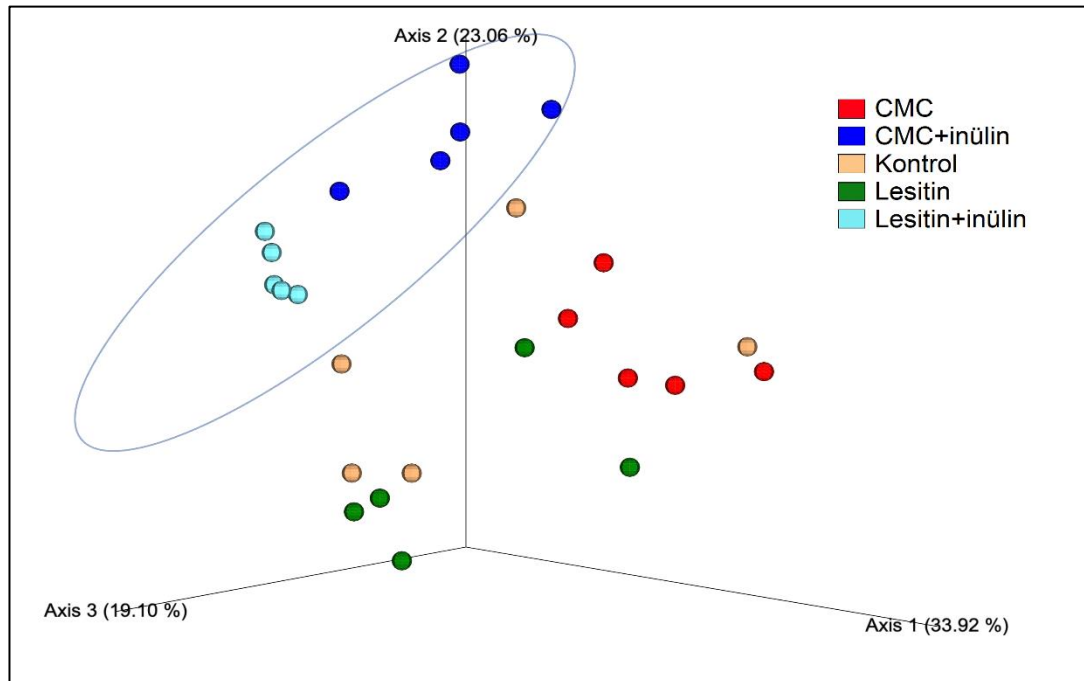
Şekil 4.16. Grupların alfa çeşitliliğinin dağılımı (Shannon indeksi).

Gruplar arasında mikrobiyal popülasyon yapısındaki genel farklılıkları ve benzerlikleri değerlendirmek için β -çeşitlilik analizi yapılmıştır. β -çeşitlilik, grupların birbirinden taksonomik olarak ne kadar uzak olduklarını göstermektedir. Gruplar arası beta çeşitlilik ağırlıklı ve ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümleri ve Bray-Curtis dissimilarity indeksi ile kantitatif ve kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası beta çeşitlilik metrikleri her 3 indeks için de anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0,001$) (Şekil 4.17-4.19).

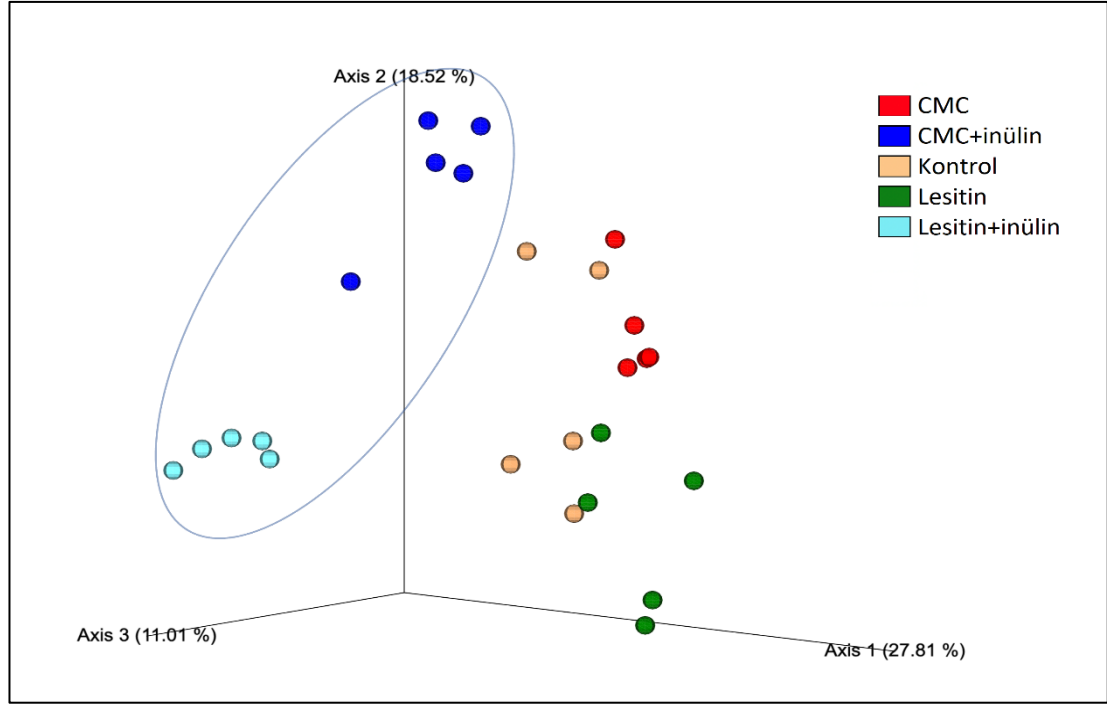
Kalitatif olarak ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümleri baz alındığında hem CMC hem de lesitin gruplarında kontrole göre komünite yapısının anlamlı olarak değiştiği gözlenmiştir. CMC grubunun kontrol grubuna uzaklığının lesitine göre daha yüksek olduğu, dolayısıyla komünite yapısını daha çok değiştirdiği saptanmıştır. Hem lesitin hem de CMC gruplarında inülin sonrası komünite kompozisyonu anlamlı olarak değişmiştir (CMC vs CMC+inülin, $p=0,017$; lesitin vs lesitin+inülin, $p=0,017$). Ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümünde CMC+inülin ile kontrol grubu hariç tüm karşılaştırmalar için anlamlı farklılık belirlenmiştir. Bu durum, inülin uygulamasından sonra CMC ile ilişkili mikrobiyotadaki değişikliğin, kontrol grubuna yaklaşmasıyla açıklanabilir. Her bir örnek için uzaklık matrislerinden hesaplanan ikili grup karşılaştırmaları için PERMANOVA sonuçları **Tablo 4.3**'te verilmiştir.



Şekil 4.17. Ağırliksız UniFrac uzaklık ölçümlerini gösteren PCoA grafiği ($p=0,001$).



Şekil 4.18. Ağırklı UniFrac uzaklık ölçümlerini gösteren PCoA grafiği ($p=0,001$).



Şekil 4.19. Bray-Curtis indeksini gösteren PCoA grafiği ($p=0,001$).

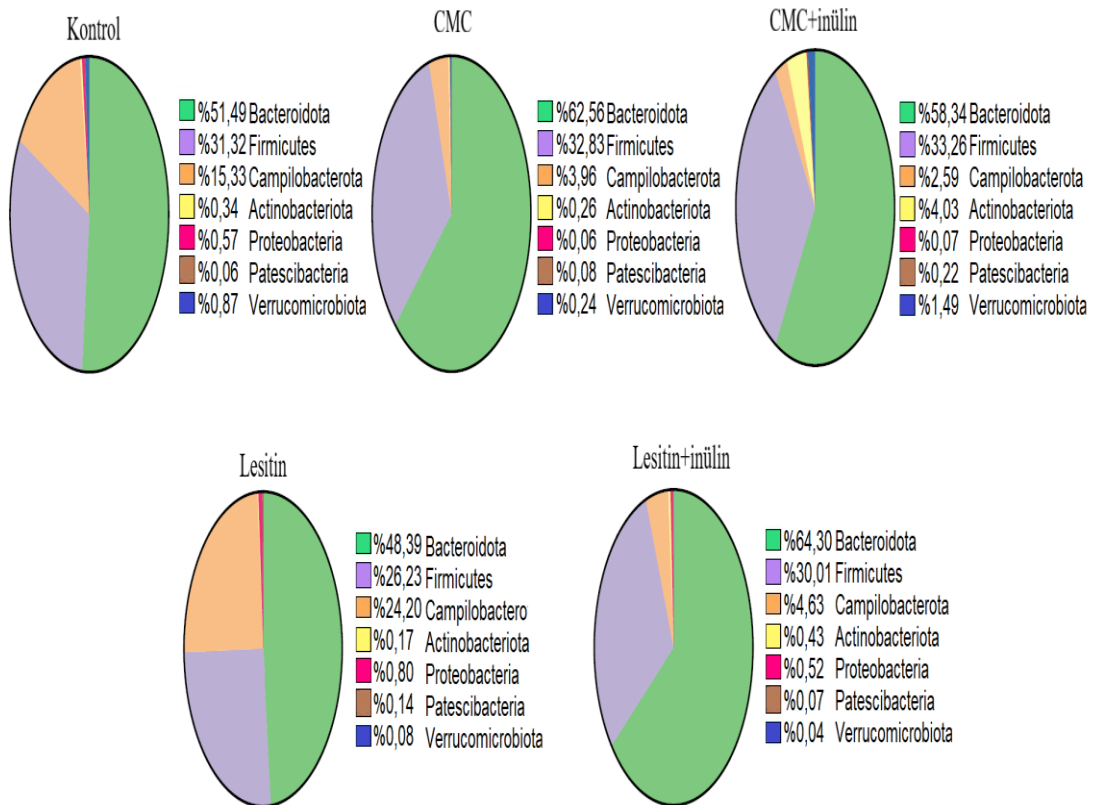
Tablo 4.3. Gruplar arası beta çeşitlilik metriklerinin karşılaştırılması (PERMANOVA)

1. Grup	2. Grup	Ağırlıksız UniFrac		Ağırlıklı UniFrac		Bray-Curtis	
		pseudo-F	q	pseudo-F	q	pseudo-F	q
CMC	CMC+inulin	3,010	0,017	10,820	0,009	6,704	0,019
CMC	Kontrol	2,893	0,017	2,940	0,071	3,037	0,021
CMC	Lesitin	2,494	0,017	3,741	0,059	2,690	0,021
Lesitin	Lesitin+inulin	2,804	0,017	6,389	0,006	6,620	0,019
Lesitin	Kontrol	1,677	0,043	1,166	0,362	2,253	0,034
Kontrol	CMC+inulin	1,912	0,062	4,166	0,017	3,946	0,019
Kontrol	Lesitin+inulin	2,793	0,017	4,477	0,009	4,690	0,019
CMC+inulin	Lesitin+inulin	2,102	0,024	12,602	0,005	7,624	0,019

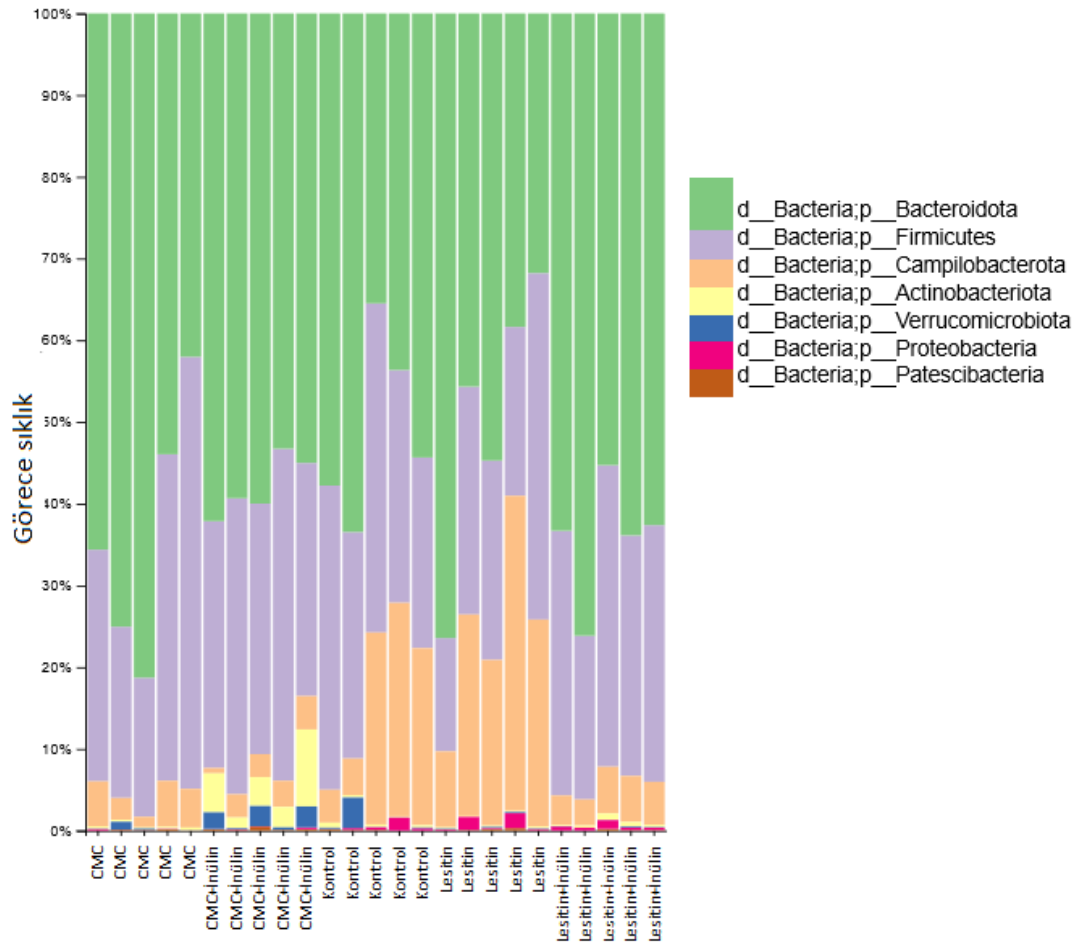
PERMANOVA sonuçları Benjamini-Hochberg düzeltilmiş p değerleri (q) olarak verilmiştir.

4.3.2. Relatif Taksonomik Dağılım

Farelerin fekal örneklerinde yapılan analiz sonucu taksonomik olarak yedi farklı bakteriyel filum gözlenmiştir. Mikrobiyota kompozisyonuna bakıldığında *Bacteroidetes* filumunun tüm gruplarda baskın olduğu ve bunu *Firmicutes*'in izlediği, geri kalanın *Campilobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* ve *Patescibacteria* filumlarından oluştuğu belirlenmiştir. Gruplar arasında CMC+inülin grubunda *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobiota* filumlarının diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Bacteroidota* filumunun kontrol ve lesitin grubunda, CMC, CMC+inülin ve lesitin+inülin gruplarından daha düşük olduğu, *Campylobacterota* seviyelerinin ise lesitin grubunda daha yüksek olduğu ve inülin uygulamasıyla bu filumun azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.20, 4.21).



Şekil 4.20. Grupların fekal mikrobiyota kompozisyonunun filum düzeyinde dağılımı.

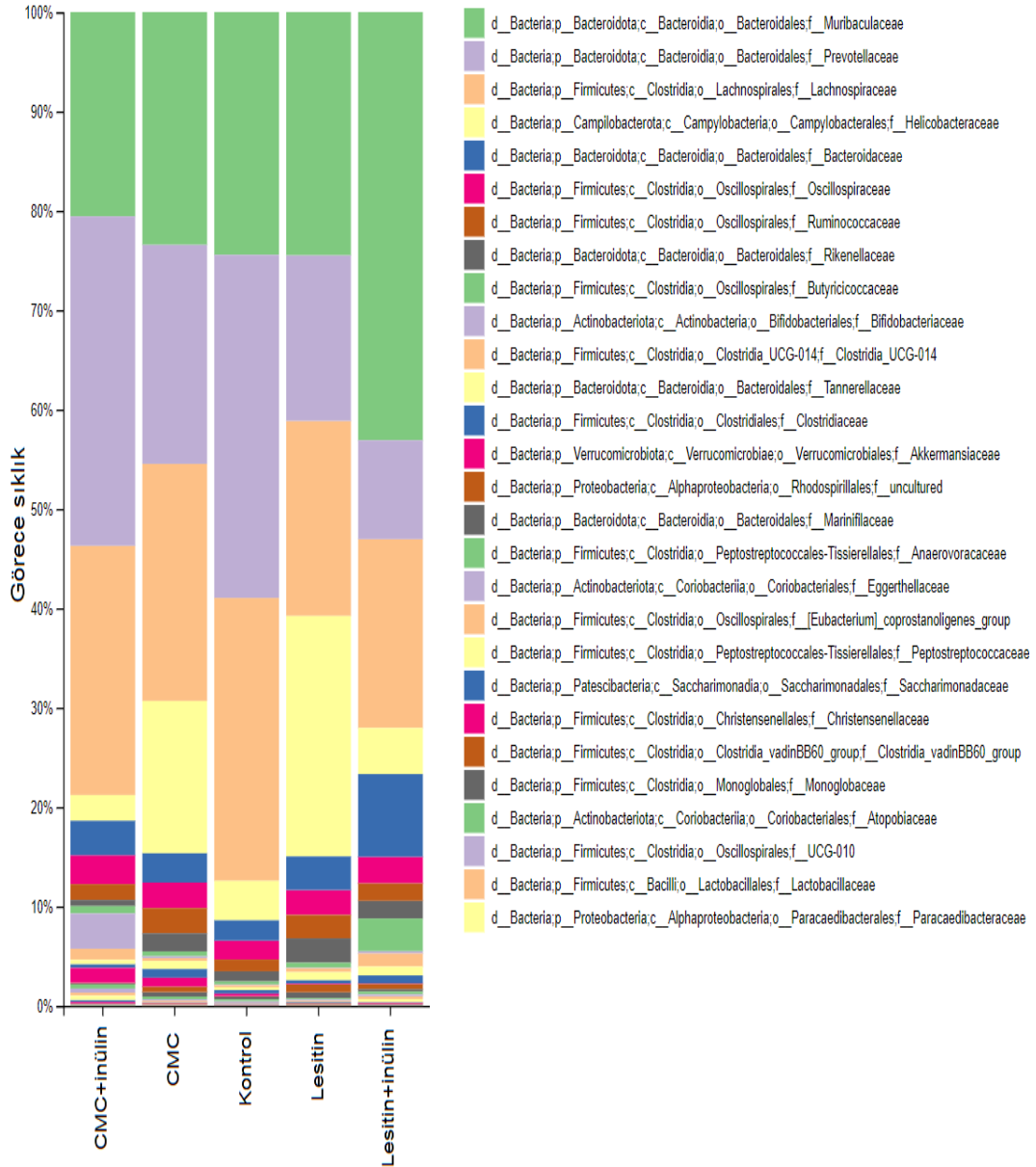


Şekil 4.21. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonunun filum düzeyinde görece sıklık dağılımı (%).

Farelerin mikrobiyota kompozisyonu aile düzeyinde incelendiğinde 28 aile olduğu ve bunlardan *Muribaculaceae*, *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Helicobacteraceae* ve *Bacteroidaceae*'nin tüm gruplarda en fazla bulunan aileler olduğu belirlenmiştir.

Filum düzeyinde bakıldığında *Bacteroidetes* filumuna ait en fazla bulunan ailelerin *Muribaculaceae*, *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Rikenellaceae*; *Firmicutes* filumuna ait *Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae*, *Ruminococcaceae*; *Campilobacterota* filumuna ait *Helicobacteraceae*, *Actinobacteria* filumuna ait *Bifidobacteriaceae*; *Verrucomicrobia* filumuna ait *Akkermansiaceae* olduğu saptanmıştır (Şekil 4.22).

CMC grubunda kontrole göre daha düşük olan *Actinobacteria* sınıfına ait *Bifidobacteriaceae* familyası ve *Verrucomicrobia* sınıfına ait *Akkermansiaceae* familyasının CMC+inülin grubunda görece daha yüksek olduğu görülmüştür. CMC ve CMC+inülin gruplarında *Prevotellaceae* familyası kontrol ve lesitin gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca lesitin+inülin grubunda *Muribaculaceae* familyasının lesitin grubuna göre arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.22).



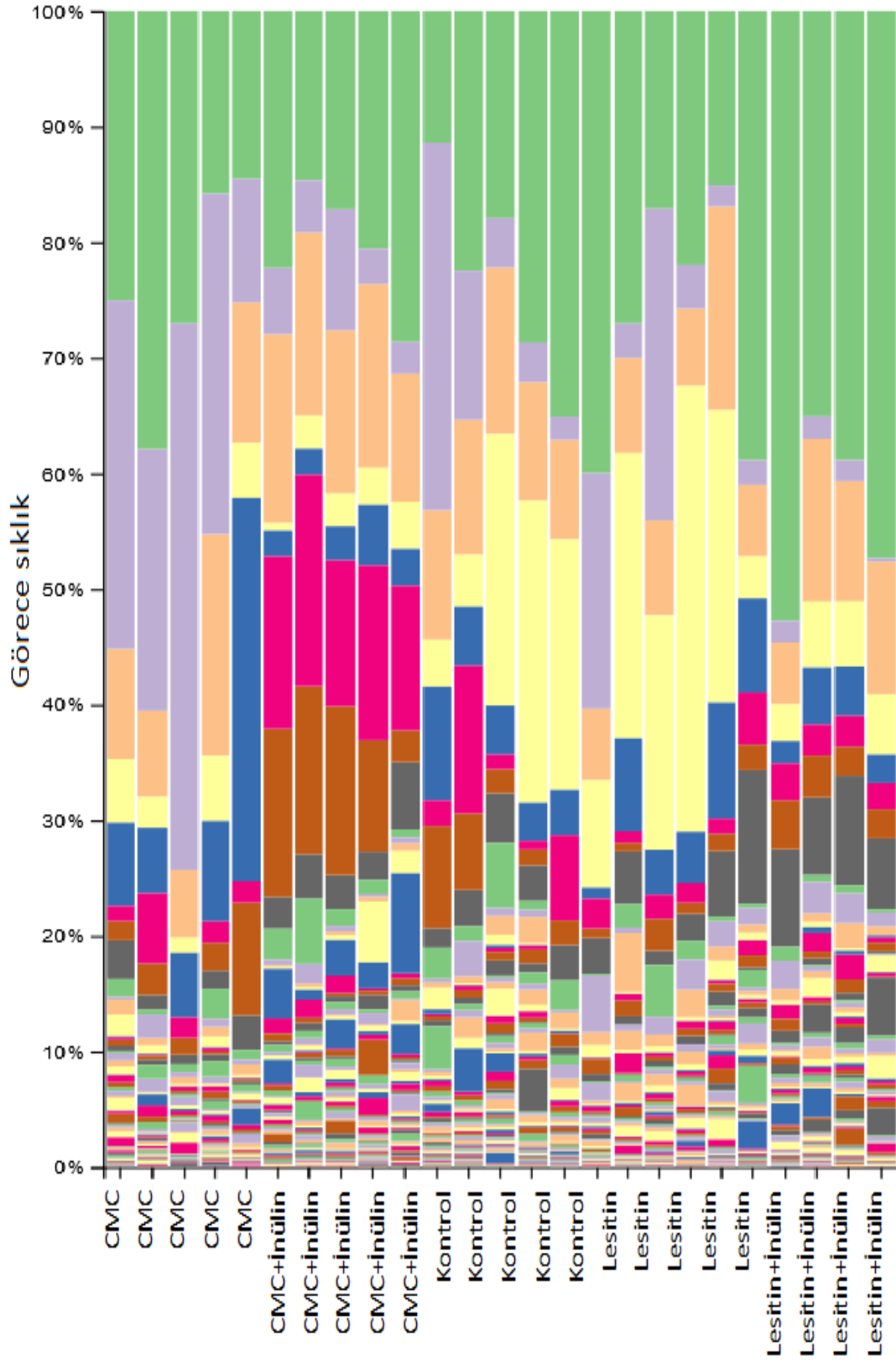
Şekil 4.22. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonun familya düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru göreceli sıklık dağılımı (%).

Mikrobiyota kompozisyonları cins düzeyinde incelendiğinde tüm gruplarda genel olarak *Muribaculaceae*, *Lachnospiraceae_NK4A136_grup*, *Helicobacter*, *Prevotellaceae_UCG-001*, *Prevotellaceae_NK3B31_grup*, *Bacteroides*, *Lachnospiraceae_UCG-001*'nin baskın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.23, 4.24). Diğer gruplara göre CMC+inülin grubunda *Prevotellaceae_NK3B31*, *Prevotellaceae_UCG-001* ve *Akkermansia* cinsinin görece daha yüksek olduğu, *Prevotellaceae_Ga6A1* grubun ise lesitin+inülin grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür. Grupların cins düzeyindeki görece sıklıkları **Tablo 4.4**'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Gruplar arasında cins düzeyinde görece sıklık (%) dağılımı (en yaygın 30 cins).

Cins	CMC (n=5)	Lesitin (n=5)	CMC+ İnulin (n=5)	Lesitin+ inulin (n=5)	Kontrol (n=5)
f__Prevotellaceae;g__	26.97	10.72	5.61	1.61	11.72
g__Muribaculaceae	23.80	23.77	20.07	42.75	22.85
g__Lachnospiraceae_NK4A136_grup	12.92	5.57	3.06	4.24	5.39
f__Lachnospiraceae;g__	10.97	9.51	14.88	9.55	11.18
g__Helicobacter	3.98	24.20	2.59	4.63	15.33
g__Prevotellaceae_UCG-001	3.87	1.35	11.88	3.09	4.40
g__Prevotellaceae_NK3B31_grup	2.60	1.71	14.75	3.04	4.73
g__Bacteroides	2.03	3.38	3.46	8.33	2.95
g__Lachnospiraceae_UCG-001	1.19	1.76	2.51	0.66	2.27
g__Alistipes	0.85	2.17	0.36	1.04	1.28
g__Roseburia	0.77	0.76	1.38	0.37	0.67
g__Prevotellaceae_Ga6A1_grup	0.77	2.28	0.70	2.07	1.01
g__[Eubacterium]_xylanophilum_grup	0.72	0.13	0.56	0.39	1.33
g__Muribaculum	0.63	0.72	0.48	0.34	0.57
f__Oscillospiraceae;g__uncultured	0.48	0.73	0.22	0.32	0.49
g__ASF356	0.46	0.27	0.31	0.30	0.51
g__Marvinbryantia	0.44	0.19	0.31	0.15	0.10
f__Ruminococcaceae;g__	0.42	0.31	0.45	0.21	0.23
g__Colidextribacter	0.40	0.43	0.49	0.44	0.49
f__Oscillospiraceae;g__	0.39	0.79	0.65	0.56	0.75
g__Oscillibacter	0.37	0.25	0.87	0.37	0.48
g__Candidatus_Arthromitus	0.37	0.33	0.36	0.80	0.88
g__Paraprevotella	0.31	0.58	0.21	0.14	0.17
g__Anaerotruncus	0.29	0.31	0.26	0.22	0.54
g__Odoribacter	0.29	0.59	0.11	0.26	0.45
g__Parabacteroides	0.28	0.82	0.45	0.89	0.81
g__Blautia	0.28	0.10	0.74	0.73	0.20
g__Butyrivicoccus	0.25	0.38	0.56	0.26	0.34
g__Akkermansia	0.24	0.08	1.49	0.04	0.87
g__Clostridia_UCG-014	0.22	0.41	1.11	1.34	0.30

*Cins seviyesinde açıklama mevcut olmadığı durumlarda aile düzeyinde bilgi verilmiştir. **f**:aile, **g**:cins.



Şekil 4.23. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonunun cins düzeyinde göreceli sıklık dağılımı (%).

d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Muribaculaceae;g_Muribaculaceae
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_
 d Bacteria;p_Campilobacterota;c_Campylobacteria;o_Campylobacterales;f_Helicobacteraceae;g_Helicobacter
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospiraceae_NK4A136_group
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotellaceae_NK3B31_group
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotellaceae_UCG-001
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_Bacteroides
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospiraceae_UCG-001
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotellaceae_Ga6A1_group
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g_Alistipes
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Roseburia
 d Bacteria;p_Actinobacterota;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bifidobacterium
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridia_UCG-014;f_Clostridia_UCG-014;g_Clostridia_UCG-014
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Tannerellaceae;g_Parabacteroides
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Oscillospiraceae;g_
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_[Eubacterium]_xylanophilum_group
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Muribaculaceae;g_Muribaculum
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Ruminococcaceae;g_Ruminococcus
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Candidatus_Arthromitus
 d Bacteria;p_Verrucomicrobiota;c_Verrucomicrobiae;o_Verrucomicrobiales;f_Akkermansiaceae;g_Akkermansia
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Oscillospiraceae;g_uncultured
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Oscillospiraceae;g_Oscillibacter
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Butyricoccaceae;g_UCG-008
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Oscillospiraceae;g_Colidextribacter
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnoclostridium
 d Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_uncultured;g_uncultured
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Blautia
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_ASF356
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Butyricoccaceae;g_Butyricoccus
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Mariniflaccaceae;g_Odonibacter
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_A2
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Oscillospiraceae;g_UCG-005
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Ruminococcaceae;g_
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Ruminococcaceae;g_Anaerotruncus
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Paraprevotella
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Fusicatenibacter
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Lachnospirales;f_Lachnospiraceae;g_Marvinbryantia
 d Bacteria;p_Bacteroidota;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Rikenellaceae;g_Rikenellaceae_RC9_gut_group
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Butyricoccaceae;g_
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_Ruminococcaceae;g_uncultured
 d Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Oscillospirales;f_[Eubacterium]_coprostanoligenes_group;g_[Eubacterium]_coprostanoligenes_group

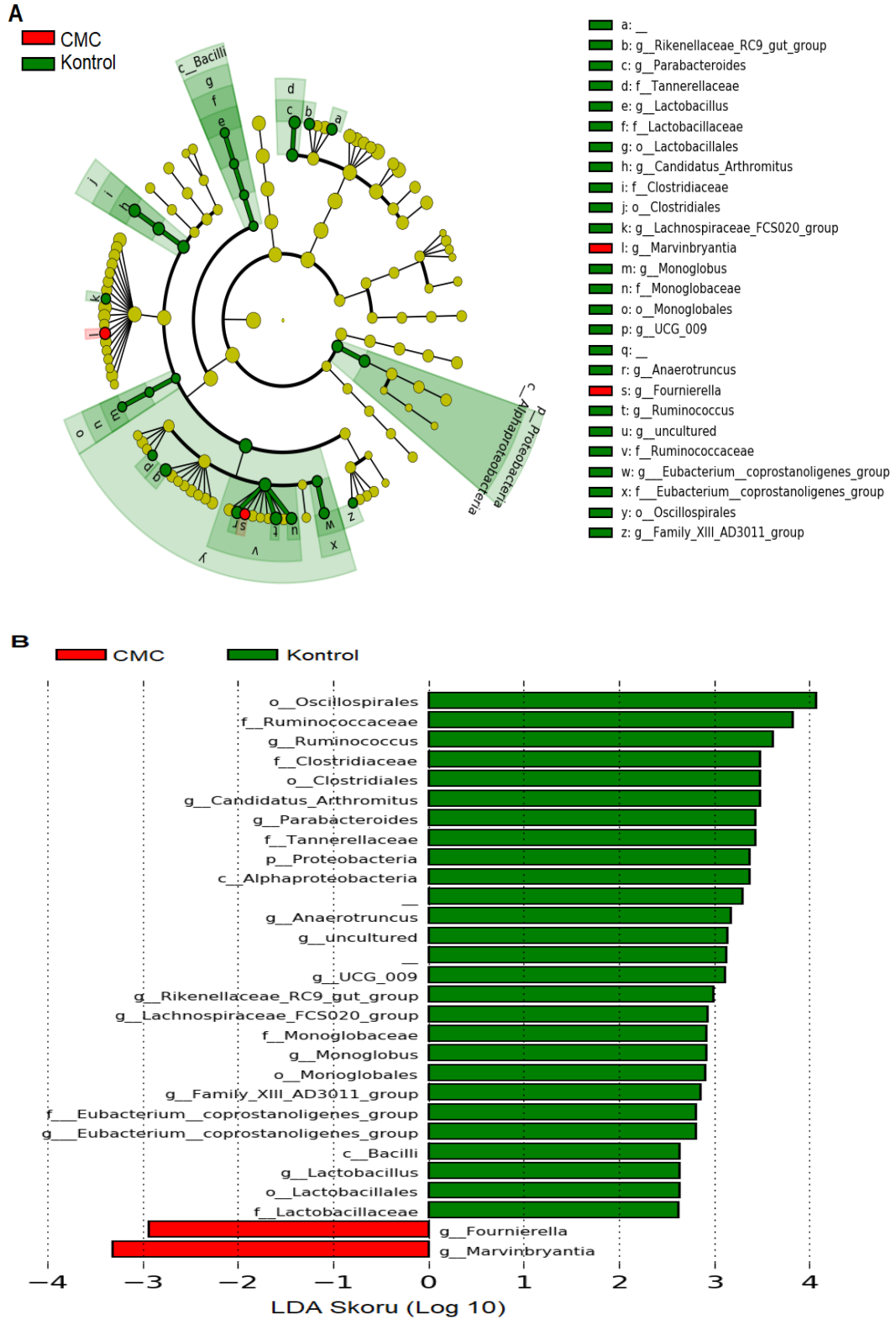
Şekil 4.24. Farelerin fekal mikrobiyota kompozisyonunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru tanımlanması.

Gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı olarak farklı olan baskın taksonomik grupları belirlemek için LEfSe analizleri kullanılmıştır. İlişkili grupların ikili karşılaştırmaları birlikte değerlendirildiğinde CMC'nin lesitin grubuna göre mikrobiyal kompozisyonu daha fazla değiştirdiği belirlenmiştir.

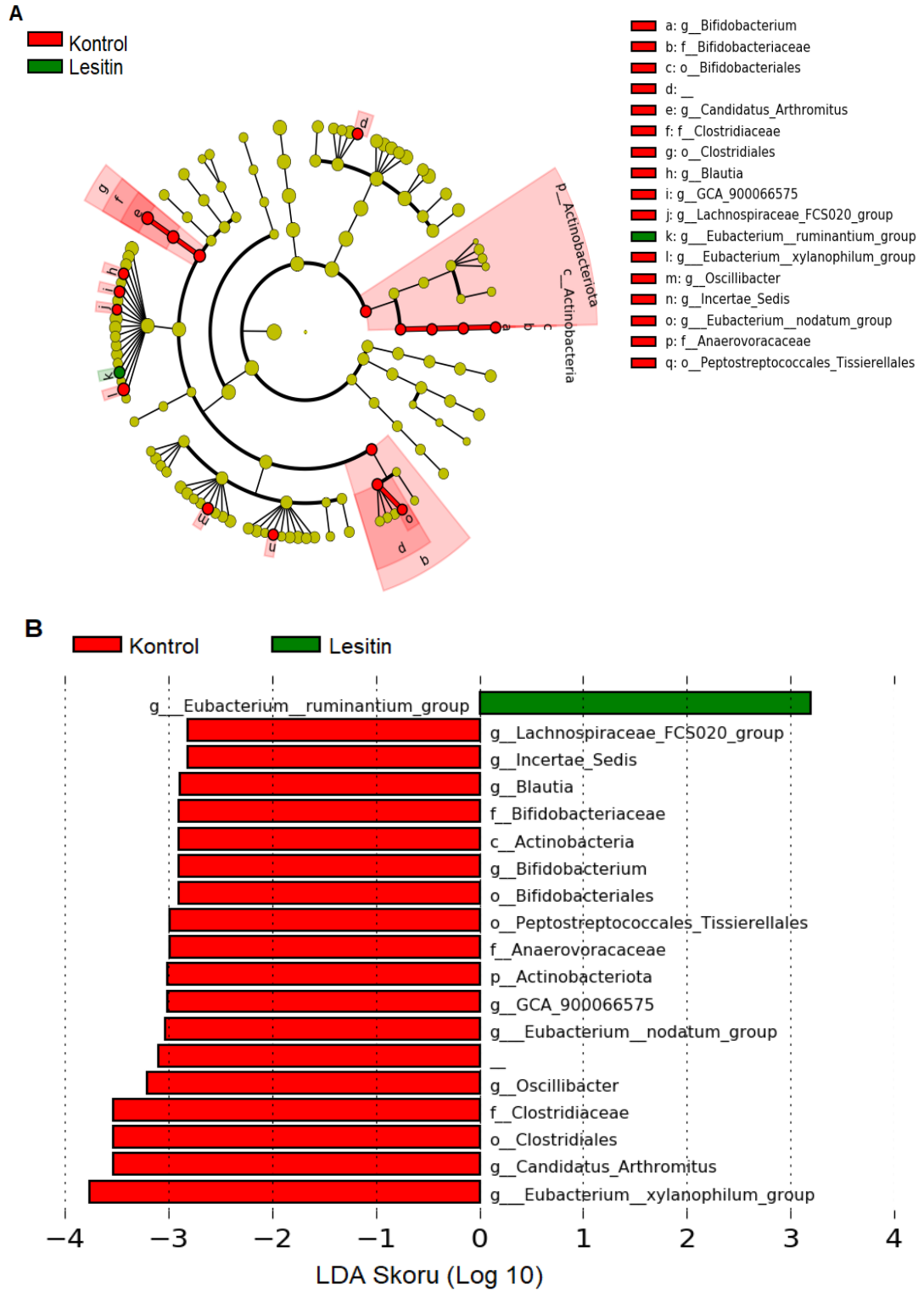
CMC grubunda kontrole göre selüloz ve metilselüloz degrade eden *Lachnospiraceae* familyasına ait *Marvinbryantia* cinsi ve *Ruminococcaceae* familyasında bulunan *Fournierella* cinsi anlamlı olarak baskın bulunmuştur. Kontrol grubuna göre CMC grubunda *Lactobacillus* önemli ölçüde azalmıştır (**Şekil 4.25**). Lesitin grubunda ise kontrole göre anlamlı baskın taksonomik grubun *Eubacterium ruminantium* olduğu ve *Bifidobacterium*'da azalma olduğu belirlenmiştir (**Şekil 4.26**). Ayrıca lesitin grubunda artan *Helicobacter* varlığının inülin uygulamasıyla azaldığı görülmüştür (**Şekil 4.26, 4.28**).

Hem lesitin hem de CMC gruplarında inülin uygulanması sonrası *Prevotellaceae_NK3B31*, *Prevotellaceae_UCG_001*, *Christensenellaceae* ailesi, *Clostridia_UCG_014*, *Eubacterium_nodatum_grup* gibi taksonomik gruplar ortak olarak anlamlı derecede artmıştır (**Şekil 4.27, 4.28**).

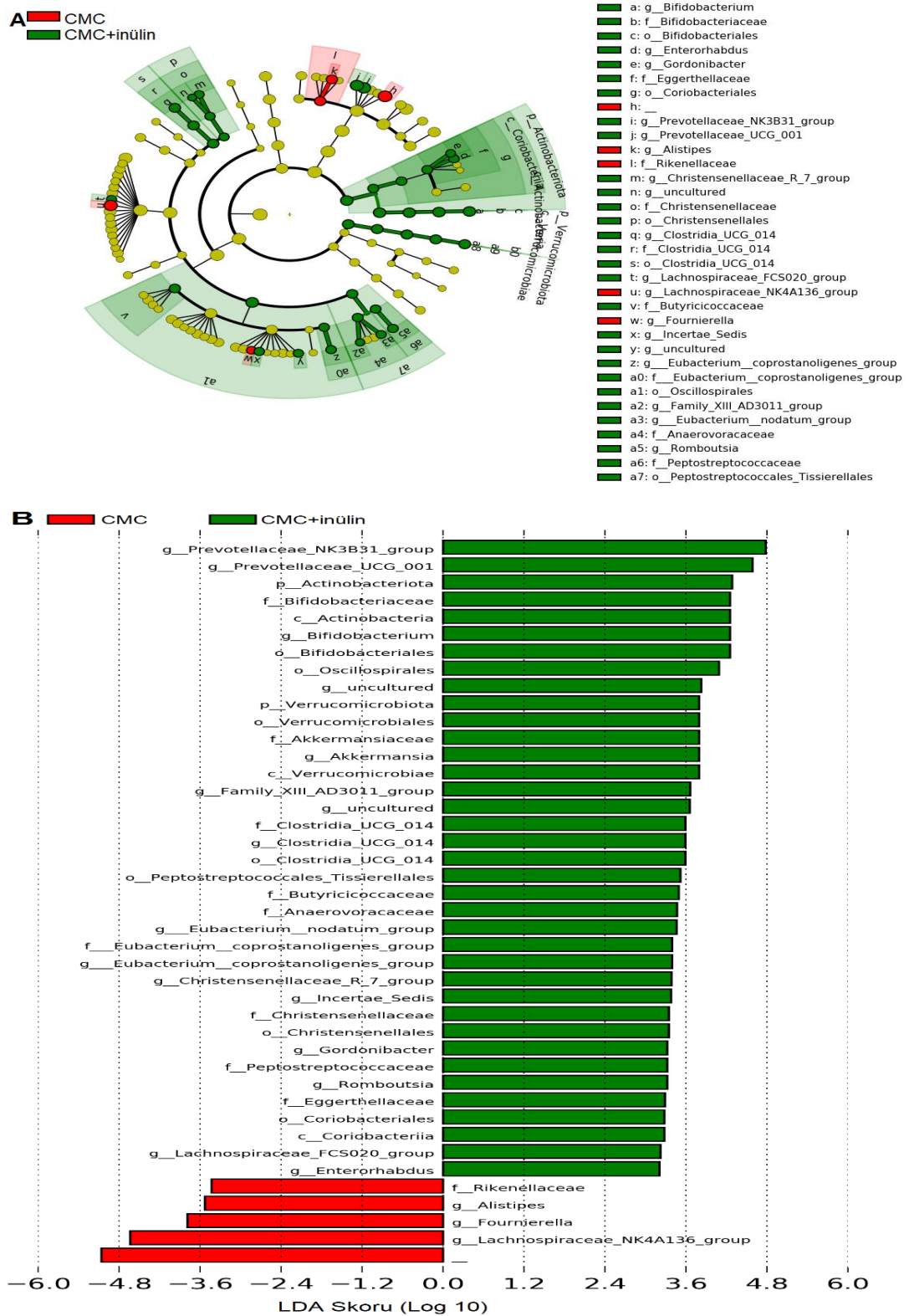
Kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde *Bifidobacterium* ve *Akkermansia* bulunan CMC grubuna inülin uygulamasının bu bakterilerin varlığını artırdığı görülmüştür (**Şekil 4.25, 4.27**).



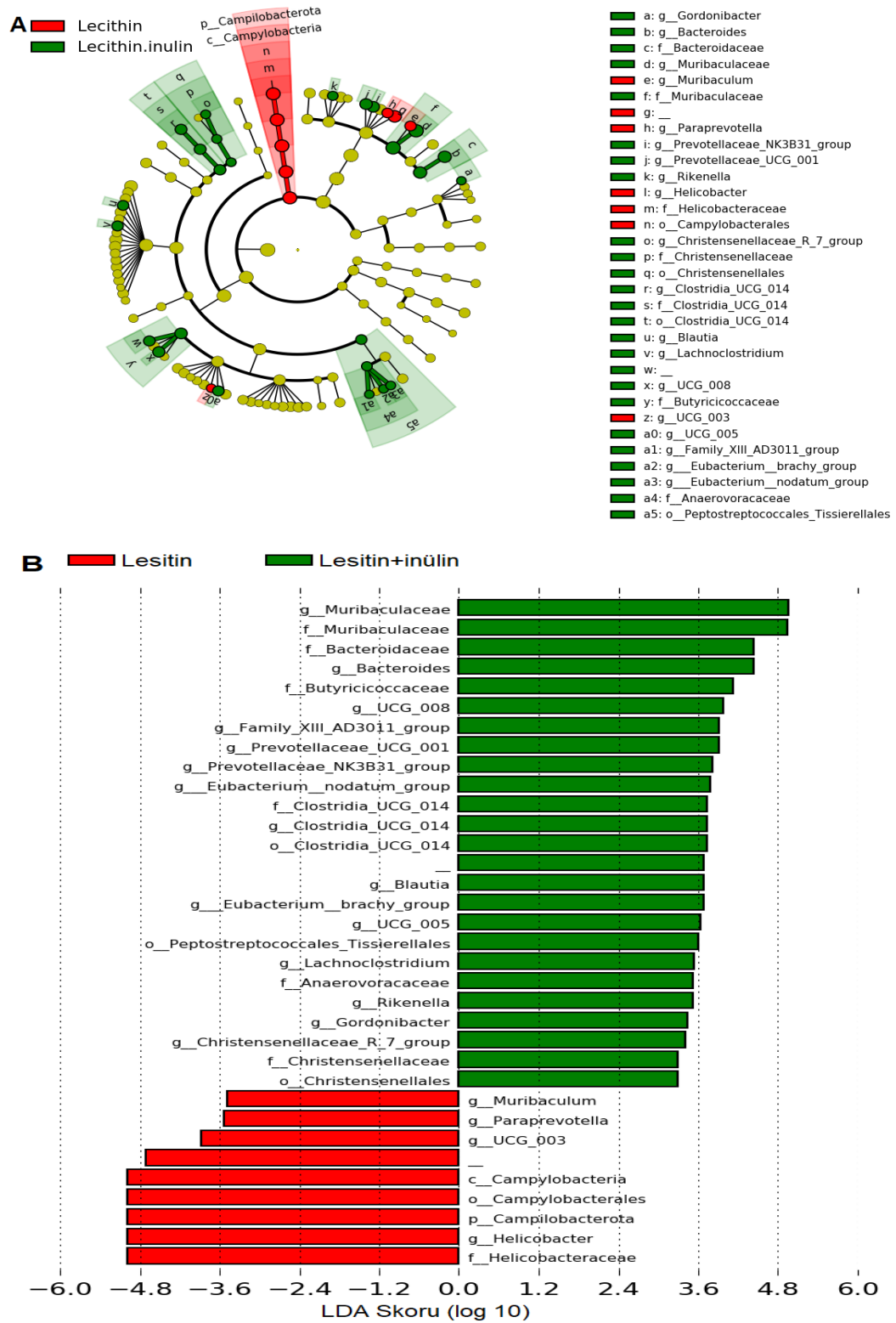
Şekil 4.25. Kontrol ve CMC grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. **LEfSe:** Lineer diskriminant analizi etki büyüklüğü, **LDA:** doğrusal diskriminant analizi.



Şekil 4.26. Kontrol ve lesitin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. **LEfSe:** Lineer diskriminant analizi etki büyüklüğü, **LDA:** doğrusal diskriminant analizi



Şekil 4.27. CMC ve CMC+inülin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Alta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. **LEfSe:** Linear diskriminant analizi etki büyüklüğü, **LDA:** doğrusal diskriminant analizi.



Şekil 4.28. Lesitin ve lesitin+inülin grubunda bakteri topluluğunun göreceli bolluğu. Üstte (A), iki grupta filumdan cins düzeyine kadar gaita mikrobiyota bileşiminin LEfSe analizi. Altta (B), LDA etki büyüklüğü analizi, gruplarda cinslerin nispi bolluğunu gösterir. **LEfSe:** Lineer diskriminant analizi etki büyüklüğü; **LDA:** doğrusal diskriminant analizi.

5. TARTIŞMA

Batı tarzı beslenme modeli yüksek yağ, işlenmiş besinler, şeker, protein ve düşük diyet lifi alımıyla karakterizedir. Bu diyet modelinin en dikkat çeken bileşenlerinden biri ultra işlenmiş besinlerdir. Ultra işlenmiş besinler, ürünün lezzetini artırmak için kullanılan lezzet arttırıcılar, renklendiriciler ve çeşitli gıda katkı maddelerini içeren endüstriyel formülasyonlardır (95). Bu gıda katkı maddelerinden biri olan kıvam arttırıcıların ve emülgatörlerin intestinal mukozal bariyer fonksiyonunu bozarak, bağırsak geçirgenliğini artırarak, bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek ve mukozal inflamasyona neden olabileceği bildirilmiştir (104). Çözünür posa ve özellikle prebiyotik alımının mikrobiyota kompozisyonunu ve fonksiyonunu etkileyerek epitel bütünlüğü, immün yanıtı ve immünolojik homeostazı etkilemektedir (17). Prebiyotikler, KZYA üretimi, sağlık için faydalı bakterilerin çoğalması ve patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellemesi ile mikrobiyotanın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (125). Bu çalışmada farklı emülgatörlerin (sodyum karboksi metil selüloz, lesitin) bağırsak mikrobiyotası ve intestinal inflamasyon üzerine etkileri araştırılmış ve emülgatörlerin potansiyel olumsuz etkilerine karşı inülinin etkisi incelenmiştir.

5.1. Vücut Ağırlığı, Yem ve Su Tüketimlerinin Değerlendirilmesi

Batı tarzı beslenme modeliyle artan ağırlık kazanımına yüksek yağ alımının yanında işlenmiş besinlerdeki emülgatör gıda katkı maddelerinin de etkisinin olabileceği belirtilmiştir. İçme suyuna %1 w/v oranında CMC ve P80 eklenen farelerin sadece su tüketen kontrol grubuna göre yem tüketimlerinin ve ağırlık kazanımlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (15). Bu çalışmada başlangıçta benzer vücut ağırlığına ($16,8 \pm 2,01$ g) sahip farelerin 12. hafta sonunda ağırlık kazanımları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,005$) (**Tablo 4.1**). Emülgatör alımının ağırlık kazanımına etkisini araştıran çalışmalarla (167,168) benzer olarak bu araştırmada farelerin ağırlık kazanımları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçların bulunması, emülgatörlerin yem tüketim miktarından

bağımsız olarak ağırlık kazanımına neden olabilecekleri konusundaki varsayıma dair kanıtların yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda yüksek diyet posası alımının, daha düşük vücut ağırlığı ve ağırlık kazanımının önlenmesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diyet posasının açlığın baskılanması, besin alımının azalması, mikrobiyotanın değişmesi, mide-bağırsak geçişinin hızlanması, besin ögeleri emiliminin azalması, ayrıca nöral ve hümmoral yollarla enerji harcamasını, iştahı ve vücut ağırlığını etkileyen KZYA kompozisyonunu değiştirmesi ile bu etkileri gösterebileceği bildirilmiştir (169,170). Yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile indüklenen diyabet modeli oluşturulmuş farelerde inülin uygulamasının yem tüketimini ve vücut ağırlığı artışını azalttığı bildirilmiştir (171). Bu çalışmada inülin uygulanan grupların posa alımları diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0,001$). Bununla birlikte farelerin yem tüketimlerine bakıldığında, inülin uygulamasının hem CMC hem de lesitin gruplarında, inülin uygulanmayan gruplara göre daha az miktarda yem tüketimiyle birlikte daha düşük enerji ve makro besin ögesi alımına neden olduğu ($p=0,001$), diğer grupların kendi arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (**Şekil 4.2**). Benzer bir çalışmada CMC, P80, lesitin ve gam arabik verilen farelerin yem tüketimlerinde anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (12). İnülin eklenen grupların ağırlık kazanımı enerji ve besin ögesi alımlarındaki azalmayla paralel olarak diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük bulunmuştur (**Tablo 4.1**). Farelere verilen inülin dozu literatürde konuyla ilişkili benzer çalışmalar temel alınarak 5g/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (155,159). Farelere verilen inülin dozu (5g/kg vücut ağırlığı) deney hayvanlarının vücut ağırlığı/vücut yüzey alanına göre (çevirme faktörü: 3/37) (172) hesaplandığında insanlardaki doz 0,4 g/kg vücut olarak bildirilmiştir. Bu miktar da ortalama 60 kg olan bir insan için yaklaşık 24 g/gün olarak hesaplanmıştır. Gıdalarda bulunan oligosakkarit ve inülin alımı ile bu bileşenlerin prebiyotik etkilerini sağlayacakları miktara ulaşılması mümkün değildir. Gıdalara özel olarak eklenen miktarlar normal diyetle alımdan en az 20 g daha fazla alım sağlayabilmektedir (141). EFSA, inülinin bağırsak fonksiyonları üzerine faydalı etkilerinden yararlanabilmek için günlük en az 12 g hindiba inülini tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir (144).

Bu çalışmada farelerin ortalama su tüketimlerinin $7,3 \pm 1,15$ ml/gün olduğu ve gruplar arasında su tüketimi açısından anlamlı fark olmadığı görülmüştür (**Tablo 4.1**). Yapılan benzer çalışmalarda farelerin su tüketimleri hakkında bilgi verilmemiştir (12,15,158). FDA, soya lesitininin ve CMC'nin GRAS sınıfında olduğunu bildirmiştir (105). EFSA tarafından besinlerin çoğunda "quantum satis" düzeyinde kullanılmalarına izin verilmiştir (108,110). Emülgatör alımı CMC grubu için ortalama $67,3 \pm 8,43$ mg/gün, CMC+inülin grubu için ortalama $70,3 \pm 11,68$ mg/gün, lesitin grubu için $75,6 \pm 10,81$ mg/gün ve lesitin+inülin grubu için $77,6 \pm 11,12$ mg/gün olarak hesaplanmış ve gruplar arasında emülgatör alımı açısından anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir (**Tablo 4.1**).

Emülgatörlerle yapılan benzer çalışmalarda farelere içme suyuna %1'lik derişimle eklenen emülgatörler verilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda farelerin günlük emülgatör maruziyetleri ile ilgili bir bilgi verilmediği için farelerin emülgatör tüketim miktarlarına ulaşılamamıştır (12,14,15). Bu çalışmada %1w/v oranında içme suyuna eklenerek tüketilen emülgatör miktarı tüm gruplarda ortalama 72 mg'dır. Farelerin ortalama ağırlıkları 27 g olarak belirlendiğinde günlük vücut ağırlığı başına tüketilen emülgatör miktarı 2700 mg/kg'dır. Deney hayvanlarının vücut ağırlığı/vücut yüzey alanına göre (çevirme faktörü: 3/37) (172) hesaplandığında insanlardaki tüketim karşılığı 216 mg/kg olarak belirlenmiştir. Vücut ağırlığı ortalama 60 kg olan bir insan için bu miktar yaklaşık 13 g/gün olarak hesaplanmıştır.

Besin etiketlerinde gıda katkı maddelerinin gıdalarda kullanım miktarlarına ilişkin bilgi bulunmadığı için işlenmiş gıdalardaki emülgatör miktarları ve besinlerle alım düzeyleri kesin olarak bilinmemektedir (104). Amerika'da insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada 10-14 günlük tüketim verisinden lesitin alımının 90. persentilde yaklaşık 114 mg/kg, CMC alımının ise 53 mg/kg olduğu ve bireylerin %100'ünün bu emülgatörleri tükettiği bildirilmiştir. Ancak bu veriler 2003-2010 yılına ait tüketimlere ilişkin verilerden hesaplanmıştır (9). Bu çalışmada hesaplanan doz, insanın diyetle alımına ilişkin verilerden daha yüksek olsa da günümüzde işlenmiş besin tüketiminin çok artmış olması ve işlenmiş besinlerde birden fazla emülgatör veya kıvam arttırıcının bir arada kullanılması alımın daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. İnsanlarda tüketilebilecek doz üzerinde yapılan bir çalışmada diyete eklenen 15 g CMC'nin ciddi

yan etkiye yol açmadığı, abdominal rahatsızlığa, mikrobiyota kompozisyonunda ve KZYA’nde değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir. Tüketilen CMC dozunun ortalama bir insanın alımının üstünde olduğu ancak, yüksek miktarda işlenmiş besin tüketen bireyler için besinlerin çoklu emülgatör içeriği düşünüldüğünde toplam emülgatör alım dozuna yaklaşık olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca insanlarda yapılan bu çalışmada CMC’nin kısa süreli etkisi incelenmiştir (173). EFSA uzun dönem emülgatör maruziyetinin sağlık riskleri açısından araştırılması gerektiğini vurgulamıştır (114).

5.2. İntestinal Histopatoloji ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi

Mukozal bariyerin bozulması, intestinal geçirgenliğin artmasına ve lümen içeriğinin epitel hücreleri etkilemesine neden olarak immünolojik yanıtın başlamasına ve intestinal inflamasyonun şiddetlenmesine neden olmaktadır. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, mukus tabakasının bileşimi ve paraselüler geçirgenliği düzenleyen adezyon molekülleri dahil mukozal bariyerin birçok özel bileşeninde çeşitli hasarlar oluşmaktadır (174).

Genetik olarak inflamatuvar bağırsak hastalıkları modeline yatkın farelere (IL-10 geni eksik) %2’lik CMC solüsyonu verildiğinde, villus uzunluklarında azalma ve villuslar arasındaki boşluklarda artış olduğu, bağırsak mukozasında bakterilerin çoğaldığı, bakterilerin kriptomların dibine doğru göç ettiği ve mukozaya yapışmasının arttığı, bu değişikliklerin inflamatuvar bağırsak hastalıklarına benzer yapıda olduğu belirtilmiştir (175). Başka bir çalışmada P80 verilen farelerde villus/kript oranının kontrol grubuna göre daha küçük olduğu bildirilmiştir (16). Benzer bir çalışmada genetik olarak yatkın farelerde P80 ve CMC’nin emülgatör tüketmeyen kontrol grubuna kıyasla kolit oluşumuna neden olduğu, normal farelerde (genetiği değiştirilmemiş-vahşi tip) ise koliti indüklediği ancak kolon kısalması ve epitel hasarı içeren kronik intestinal inflamasyon ile sonuçlandığı, kolondaki bakteri adhezyonunu iki kat daha fazla artırdığı belirtilmiştir. Ayrıca emülgatörlerin bazı bakterilerin epitelyuma temas mesafelerini azalttığı, bu mikrobiyota istilasının mukus kalınlığının azalmasıyla ilişkili olduğu vurgulanmıştır (15). Lesitinle ilgili yapılan pilot bir çalışmada farelere içme suyuyla verilen %0,1’lik lesitin sistematik dolaşıma bakteriyal translokasyonu artırdığı bildirilmiştir (107). Başka bir çalışmada ise yüksek yağlı diyetle verilen soya lesitinin bağırsakta akut yağ asidi emilimini artırdığı ve

beyaz yağ dokusunda hipertrofi ile inflamasyonu artırdığı, adipoz dokudaki inflamasyonun bağırsaktan lipopolisakkarit translokasyonu sonucu olabileceği belirtilmiştir (10).

Bu konuda yapılan çalışmalarla (15,175) benzer olarak bu araştırmada da CMC ve lesitin farelerin ileumlarında ve kolonlarında villuslarda kısalma ve kütleşmeye, kript uzunluklarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca gruplara inülin eklenmesi ile hem ileumda hem kolonda villus ve kript uzunluklarının arttığı saptanmıştır (**Tablo 4.2, Şekil 4.3-4.5**). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelere inülin müdahalesinin kolon kript uzunluğunu artırdığı bildirilmiştir (176). İnülinin intestinal sağlık üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, 21 gün boyunca uygulanan inülinin villus uzunluğunu artırdığı, zonulin seviyesini artırarak epitel bütünlüğü koruduğu bildirilmiştir (150). Çalışmamızda yüksek yağlı diyetin etkisinde olduğu gibi azalmış villus ve kript uzunluklarının inülin uygulamasıyla artabileceği, böylece emülgatörlerin olumsuz etkilerine yönelik inülinin intestinal hasara karşı koruyucu olabileceği belirlenmiştir.

Bu çalışmada ayrıca kontrol grubunda bağırsak lümenlerinde az miktarda bakteri kümesi gözlenirken, CMC ve lesitin gruplarında bağırsak lümeninde yüksek miktarda bakteri kümesi bulunduğu, ancak bu mikrobiyal göçün serum inflamatuvar parametrelerinin düzeylerini artırmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). İnülin uygulaması hem CMC hem de lesitin verilen gruplarda bakteri yoğunluğunu azaltmış, ancak tamamen düzelmeye sağlamamıştır (**Şekil 4.6-4.8**). Benzer bir çalışmada CMC'nin mikrobiyotanın epitele göçünü artırdığı, ancak bu artışın serum inflamatuvar parametreleriyle ilişkili olmadığı, *A. muciniphila* müdahalesinin artan bakteri göçünü hafif düzeyde engellediği bildirilmiştir (168). Başka bir çalışmada inflamasyona genetik olarak yatkın (IL-10^{-/-}) ve normal farelere CMC verildiğinde kolondaki bakterilerin epitele uzaklığının azaldığı, ancak yalnızca genetik yatkın farelerde IL-1 β seviyesinin arttığı bildirilmiştir (14). Emülgatör alımının intestinal geçirgenliği artırarak lümendeki bakteri yoğunluğuna neden olması intestinal inflamasyonu düşük miktarda artırmıştır. Genetik yatkın farelerde yüksek inflamasyonun varlığı, insanlarda görülen İBH'daki genetik yatkınlığın önemini fare modellerindeki mekanizmalarda da ortaya çıkarmaktadır.

Prebiyotikler ve fermentasyonları sonucu oluşan KZYA epitel bariyer bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynamaktadır (49). İntestinal epitel hücreleri ve mukus tabakasını içeren “üst bariyer” ve lamina propriadaki lenfositleri içeren “alt bariyer” intestinal bariyer sistemini oluşturmaktadır. Goblet hücreleri, emici epitel hücreler ve Paneth hücrelerini içeren bağırsak epitel hücreleri, bağırsak mikrobiyotası ile konakçı bağışıklığı arasındaki sağlıklı ilişkiyi sürdürmektedir (177).

Mukus, goblet hücreleri tarafından salgılanan, musin glikoproteininden zengin viskoz yapıda bir sıvıdır. Goblet hücrelerinden mukus salgılanması, bağırsak mikroorganizmaları, KZYA veya interlökin-5 (IL-5) ve interlökin-13 (IL-13) dahil yardımcı T hücreleri-2 (Th2) sitokinleri gibi metabolitleri algılayan konakçı tarafından düzenlenmektedir. Çok sayıda bakterinin bulunduğu kolonda goblet hücre sayısı ince bağırsaktan daha yüksektir. Bu nedende kolondaki mukus tabakası çok kalındır. Goblet hücreleri tarafından üretilen musin-2, hem mukus tabakasını organize etmekte hem de komünite hücrelere tolerojenik sinyaller ileterek bağırsak antijenlerinin immünojenitesini sınırlandırmaktadır (178).

Yapılan bir çalışmada % 1 w/v oranında P80 içeren içme suyu tüketen farelerde musin-2 gen ekspresyonunun ve mukus kalınlığının azaldığı, bağırsak geçirgenliğinin arttığı ve intestinal bakterilerin epitelyuma göç ettiği bildirilmiştir (179). Benzer bir çalışmada CMC ve P80’in mukus tabakasında hasara neden olduğu, bakteriyal adhezyonu artırdığı ve daha proinflamatuvar bir mikrobiyota kompozisyonuna sahip olduğu gösterilmiştir. Mikrobiyota kompozisyonundaki değişikliklerin doğuştan immün yanıtı aktive ettiği, lipopolisakkarit ve flagellin resöptörleri aracılığıyla proinflamatuvar gen ekspresyonunu artırdığı belirtilmiştir (15). Gebe farelere verilen P80’in yavrularda intestinal bariyer fonksiyonu bozduğu, intestinal gelişimi geciktirdiği ve düşük dereceli inflamasyona neden olduğu, ayrıca yetişkinlik döneminde kolite yatkınlığı artırdığı belirtilmiştir. Yenidoğan farelerde villus ve kript uzunluklarının, musin 2, zonulin ve klaudin mRNA seviyesinin azaldığı, böylece bağırsak geçirgenliğinin ve intestinal inflamasyonun arttığı bildirilmiştir (112).

On iki hafta boyunca % 1w/v CMC içeren içme suyu verilen farelerde kolonik mukus tabakasının incelendiği, bağırsak geçirgenliğinin arttığı ve mikrobiyota kompozisyonunun musin yıkıcı bakteriler yönünde değiştiği bildirilmiştir. Farelere

bozulan intestinal mikrobiyotanın düzeltilmesi için galaktooligosakkarit verildiğinde musin-2 gen ekspresyonunun arttığı, bağırsak bariyer fonksiyonunun ve mukus tabakasının kalınlığının düzeldiği belirtilmiştir (18). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelere soya lesitini verilen bir çalışmada, sadece yüksek yağlı diyetle beslenenlere göre kolonda kript başına daha az sayıda mukus üreten goblet hücresi olduğu bildirilmiştir (10). Başka bir çalışmada, farelere P80 ve CMC verildiğinde goblet hücre sayısının azaldığı, bu farelere *A. muciniphila* verildiğinde mukus bariyerinin güçlendiği ve böylece emülgatörlerin etkisine karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (168). Bu çalışmada PAS boyaması ile belirlenen goblet hücre sayısının kontrol grubuna göre CMC ve lesitin grubunda azaldığı ($p<0,001$), bu gruplara inülin eklenmesinin goblet hücre sayısı ve büyüklüğünü artırdığı saptanmıştır ($p<0,001$) (**Tablo 4.2, Şekil 4.11-4.12**). Yapılan bir çalışmada 2,5 g/kg ve 5 g/kg standart inülin veya kıza zincirli inülin verilen farelerde çekal musin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (155). Yüksek posa tüketen farelerde düşük tüketenlere göre mukus tabakası oluşumuna katılan, bağırsak duvarını hasardan ve mikrobiyal temastan korunmasıyla ilgili olduğu bilinen musin-2 ekspresyonunun daha yüksek olduğu ve intestinal bütünlüğü iyileştirdiği bildirilmiştir (170). Musin-2 seviyesinin artması, epitel bütünlüğü koruyarak emülgatörlerin neden olabileceği intestinal hasarının ve olası İBH patogenezinin ortaya çıkmasına karşı koruyucu etki gösterebilir.

İnflamatuvar bağırsak hastalığının önemli bir sonucu bağırsak fibrozudur. Fibrozis ilerledikçe bağırsağın bazı bölümleri daralmakta bu da bağırsağın yapısını ve işlevselliğini ciddi şekilde etkileyerek hastaların yaşam kalitesini bozmaktadır. Kronik inflamasyon önemli bir fibrozis başlatıcı faktördür. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları sıklıkla tipik olarak bağırsak duvarında aşırı skar dokusu birikmesi olarak tanımlanan bağırsak fibrozuyla sonuçlanmaktadır (180). Bu çalışmada CMC ve lesitin gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında herhangi bir fibrozis gözlenmemiştir. Ancak propria mukozasının bağ dokusundaki kollajen miktarında hafif bir azalma gözlenmiş, bu durumun bu gruplarda bağırsak geçirgenliğinin artmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (**Şekil 4.9-4.10**).

Bağırsak mukozal bariyerinin bozulması ve bakteri invazyonu, intestinal inflamasyona neden olmaktadır. Bağırsak epitel hücrelerinde daha fazla TLR4/NF- κ B

stimülasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve inflamatuvar sitokin salınımı ile duyarlı hücrelerde anormal proliferasyonu desteklemektedir. Düzensiz inflamatuvar yanıtlar, ülseratif kolit ile artan kolon karsinomu riski arasındaki ilişki gibi, tümörlerin başlamasında, gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir role sahiptir (181).

Yapılan bir çalışmada P80 ve CMC verilen farelerde inflamasyonun göstergesi olan fekal Lcn-2 seviyesinin normal farelerde hafif, genetik olarak yatkın farelerde ise yüksek düzeyde (yaklaşık 10 kat) arttığı bildirilmiştir. Genetik modifiye olmayan farelerde emülgatörlerin belirgin bir kolite neden olmadığı, ancak epitel hasara ve kolon morfolojisinde değişikliğe ve düşük dereceli inflamasyona neden olduğu, genetik olarak yatkın farelerde ise ciddi kolite neden olduğu belirtilmiştir (15). Başka bir çalışmada ise diyetle CMC alımı ile Lcn-2 seviyesinin kontrole göre arttığı (9,5±2,8 vs 2,7±0,8 ng/g feçes) bildirilmiştir. Çalışmada farelere galaktooligosakkarit verilmesinin inflamasyonu azalttığı saptanmıştır (18). Bu çalışmada gruplar arasında Lcn-2 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı, ancak CMC verilen grupta kontrole göre artan (9,7±3,29 vs 4,7±3,49 ng) Lcn-2'nin, inülin eklenmesiyle 4,1±2,98 ng'a düştüğü ve sonucun ikili karşılaştırmada anlamlı olduğu görülmüştür (p=0,012) (**Tablo 4.2, Şekil 4.13**). Benzer bir çalışmada CMC verilen farelerde, kontrol grubuna göre Lcn-2 seviyesinin hafif derecede arttığı, *A. muciniphila* eklenmesinin lipokalin seviyesinde azalma sağladığı bildirilmiştir (168). Tüm bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda CMC ile değişen mikrobiyota kompozisyonunun neden olduğu inflamasyonun önlenmesinde prebiyotik ve probiyotiklerin mikrobiyota kompozisyonunu düzenleyerek olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir.

Sağlıklı yetişkin bireylere 15g/gün CMC verildiğinde lipopolisakarit ve flagellin dışı seviyelerinin CMC alımından etkilenmediği ve serum inflamatuvar parametrelerinde fark yaratmadığı bildirilmiştir (173). Genetik yatkınlığı olmayan fare modellerinde ve sağlıklı insan çalışmalarında emülgatörlerin yüksek düzey inflamasyona neden olmadığı görülmektedir. Bu çalışmada da farelerin serum IL-6 seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05). Serum IL-10 seviyelerine bakıldığında ise CMC ve lesitin grubunda azalan IL-10 seviyesinin inülin eklenmesiyle arttığı ve sağlıklı kontrol grubuna benzediği görülmüştür (p=0,001) (**Tablo 4.2**). İnülinin fermentasyon sonucu oluşan KZYA'nin, GPCR

aktivitesi ile IL-10 ve TGF- β salınımına neden olarak Treg hücrelerini uyarması bu durumu açıklamaktadır (126). İnülinin, artmış inflamasyon durumunda sıkı bağlanma proteinlerini düzenleyerek, asetat ve bütirat seviyesini artırarak, IL-6 seviyesini azalttığı bildirilmiştir (150). Ancak bu çalışmada emülgatörler inflamatuvar sitokinlerden olan IL-6 seviyesini artırmadığı için kontrol grubundan farklı olmayan IL-6 seviyesine inülinin ekstra olumlu bir etkisi görülmemiştir.

5.3. Mikrobiyota Analizlerinin Değerlendirilmesi

Bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyoz, genetik olarak duyarlı konakçılarda mukozal bağışıklık yanıtın bozulmasına ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimine neden olabilmekte ve bu da inflamatuvar bağırsak hastalıklarında görülen inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Günümüzde İBH hastalarını tedavi etmede bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi yoluyla immün homeostazın geri kazanılmasının, değerli bir terapötik yaklaşım olduğu düşünülmektedir (182).

Emülgatörler ve kıvam artırıcılar mukozal bariyer fonksiyonunu bozarak mukus tabakasının zararlı bileşiklerin ve bakterilerin lümeninden epitelyuma geçişini engelleme yeteneğini azaltabilmektedir (104). İnsan bağırsak mikrobiyal ekosisteminin (M-SHIME) mukozal simülatöründe yapılan bir çalışmada, CMC ve polisorbata 80'in, bakterilerin mukusa nüfuz etme yeteneğini artıran biyoaktif flagellin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (183). Emülgatörlerin inflamasyona neden olmasındaki temel mekanizmanın mikrobiyotanın mukus tabakasına penetrasyonunu artırarak ve mikrobiyota kompozisyonunu değiştirerek doğuştan ve adaptif bağışıklık yollarını tetiklemelerinden kaynaklandığı belirtilmektedir (19).

Emülgatörler, germ free (mikroorganizma içermeyen) farelere verildiğinde olumsuz etkinin görülmemesinin, emülgatörlerin intestinal inflamasyona neden olmasının mikrobiyota kompozisyonu ve fonksiyonunda değişiklik ile ilgili olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (15). Benzer şekilde CMC ve P80'in minimal mikrobiyotaya sahip fareleri etkilemediği, bu durumun emülgatörlerin inflamasyonu tetikleyen patobiontları seçici olarak etkilemesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (14).

Yapılan bir in vitro çalışmada, CMC, soya lesitini ve P80'in patojen bakteri konsantrasyonunda artışa ve KZYA kompozisyonunda değişikliğe (daha yüksek propiyonat ve daha düşük bütirat) neden olacak şekilde fekal mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği belirtilmiştir. Sonuçta gıda emülgatörlerinin bağırsak mikrobiyotasını etkileyebileceği ve bu etkinin, emülgatörün türünden daha çok emülsifiye edici güçleriyle orantılı olduğu bildirilmiştir (11).

Yirmi farklı emülgatörün mikrobiyota üzerine etkisini ex-vivo ortamda inceleyen bir çalışmada, CMC ve P80'in mikrobiyota üzerine önemli ölçüde, lesitinin ise hafif düzeyde etkisinin olduğu, gruplar arasında alfa çeşitlilik açısından anlamlı farklılık olmadığı bildirilmiştir (111). Bu çalışmada da gruplar arasında alfa çeşitlilik açısından anlamlı fark olmadığı, Faith filogenetik çeşitliliğinin ise CMC grubunda hem lesitin hem de CMC+inülin grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür ($p=0,028$) (**Şekil 4.14**). Kalitatif olarak ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümlerine göre, hem lesitin hem de CMC uygulanmasının kontrole göre komünite yapısını anlamlı olarak değiştirdiği, CMC grubunun kontrol grubuna uzaklığının lesitine göre daha yüksek olduğu, dolayısıyla 79omünite yapısını daha fazla değiştirdiği saptanmıştır (**Şekil 4.17**). Hem CMC hem de lesitin gruplarında inülin uygulaması sonrası komünite kompozisyonu anlamlı olarak değişmiş, ancak sonuçların CMC grubunda daha açık olduğu belirlenmiştir ($p=0,017$). Ayrıca mikrobiyal topluluğun zenginlik ve benzerlik açısından değerlendirilmesinde inülin etkisinin CMC grubunda daha yüksek olduğu gözlenmiştir (**Tablo 4.3**). Bu durumun, CMC'nin bağırsak mikrobiyomunda daha büyük değişikliklere neden olması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Benzer bir çalışmada da CMC ve P80 uygulamasının ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümleri açısından kontrol grubundan farklılık gösterdiği bildirilmiştir (168).

Başka bir çalışmada CMC ve P80'in genetik olarak mikrobiyota değişikliğine duyarlı ($IL10^{-/-}$) farelerde mikrobiyal çeşitliliği ve sağlıkla ilişkili olan *Bacteroidales* seviyesini azalttığı, mukoza ilişkili inflamasyonu destekleyen *Proteobacteria* filumunu zenginleştirdiği belirlenmiştir. Bu emülgatörler germ free farelere verildiğinde etkinin görülmediği, bu durumun emülgatörlerin intestinal inflamasyona ve patolojik hasara neden olmasının mikrobiyota kompozisyonu ve fonksiyonu ile ilişkisiyle açıklanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca emülgatörlerin safra asitleri

seviyesini değiştirdiği, bütirat seviyesini azalttığı ve mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği bildirilmiştir. Emülgatör tüketen farelerin mikrobiyotaları germ free farelere transfer edildiğinde düşük dereceli inflamasyonun görüldüğü belirtilmiştir (15).

Sağlıklı intestinal mikrobiyotada genel olarak *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumları en yüksek oranda görülmekte ve geri kalanını *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* filumları oluşturmaktadır (23,155). Bu çalışmada farelerin fekal örneklerinde yapılan analiz sonucu taksonomik olarak yedi farklı bakteriyal filum gözlenmiştir. Mikrobiyota kompozisyonuna bakıldığında *Bacteroidetes* filumunun tüm gruplarda baskın olduğu ve bunu *Firmicutes*'in izlediği, geri kalanın *Campilobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* ve *Patescibacteria* filumlarından oluştuğu belirlenmiştir (**şekil 4.20**). Ayrıca *Bacteroidetes* filumunun CMC, CMC+inülin ve lesitin+inülin grubunda kontrol ve lesitin gruplarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu filumun en baskın familyaları olan *Prevotellaceae*'nin CMC (%34,5) ve CMC+inülin (%33,1) grubunda, *Muribaculaceae*'nin lesitin+inülin grubunda (%43,1) yüksek olmasının toplamda bu farkı oluşturduğu belirlenmiştir (**şekil 4.22**). Yapılan bir çalışmada dekstran sodyum sülfat ile kolit oluşturulan farelere insan sütü oligosakkariti verildiğinde *Muribaculaceae* seviyesinin arttığı, *Muribaculaceae*'nin kolonun mukozal tabakasının korunmasında önemli rol oynadığı ve bağırsak bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (184).

Farklı emülgatörlerin mikrobiyota kompozisyonu üzerine etkisini taksonomik olarak inceleyen bir çalışmada CMC ve lesitin *Verrucomicrobia* filumunda ve *Akkermansia* varlığında azalmaya ve *Lachnospiraceae* familyasında artışa neden olduğu tespit edilmiştir (111). Farklı karragenan izomerlerinin kolit oluşumundaki etkisini araştıran bir çalışmada, içme suyuna 20 mg/L κ -, ι -, λ -karragenan eklenen farelerde tüm izomerlerin kolite neden olduğu, karragenanın intestinal emilimi olmadığı için bu etkinin mikrobiyota kompozisyonundaki değişiklikle ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Tüm karragenan izomerlerinin *Bacteroidetes* ve *Verrucomicrobia*'da, antiinflamatuvar özellik gösteren *A. muciniphila* türünde azalmaya ve *Firmicutes*'te artışa neden olduğu belirtilmiştir (13). Chassaing ve ark

(173) yaptıkları çalışmalarında sağlıklı yetişkin bireylere emülgatör içermeyen diyet veya 15g CMC içeren diyet tükettirmişlerdir. Çalışma sonunda kontrol grubuna göre diyete CMC eklenmesinin postprandiyal abdominal rahatsızlığı artırdığı ve *F. Prausnitzii* ve *Ruminococcus spp.*'yi azaltıp, *Lachnospiraceae* varlığını artırarak bağırsak mikrobiyota bileşimini değiştirdiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca bu gıda katkı maddesine mikrobiyota yanıtının oldukça bireyselleşmiş olduğu gösterilmiştir (173). *F. prausnitzii* inülini bütirata fermente edebilen bağırsak bakterilerinden biridir. Ayrıca *F. Prausnitzii* antiinflamatuvar metabolitlerin üretilmesinde görev almaktadır. Bu nedenle varlığının azalması olumsuz sağlık sonuçlarına neden olabilmektedir (154).

Yüksek yağlı diyetle indüklenen obez farelerin diyetlerine %5 selüloz, %10 selüloz, %10 kısa zincirli FOS veya %10 inülin eklenerek fermente edilebilen ve edilemeyen posanın etkisini inceleyen bir çalışmada, FOS eklenen grupta mikrobiyota kompozisyonunda *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia (Akkermansia)*'nın %5 selüloz içeren kontrol grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Selüloz ve fruktan tüketen grupların mikrobiyal çeşitliliğinin birbirinden anlamlı şekilde ayrıldığı, fermente edilebilen posanın mikrobiyal taksonomiye fermente edilemeyen posaya göre önemli ölçüde değiştirdiği belirtilmiştir (176). Benzer bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde mikrobiyota kompozisyonunda *Lachnospiraceae* familyasının arttığı, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* varlığının azaldığı, diyete hem kısa zincirli hem de uzun zincirli inülin eklenmesinin *Lachnospiraceae* familyasının azaltıcı, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* varlığını artırıcı etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca yüksek yağlı diyet tüketimiyle artan *Helicobacter* varlığının endotoksin ile pozitif korelasyon gösterdiği, inülin eklenmesiyle *Helicobacter*'in azaldığı belirtilmiştir (185). *Bifidobacteria*'nın dahil olduğu *Actinobacteria* filumunun konakçı sağlığı üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. *Bifidobacteria*'daki azalma, inflamatuvar bağırsak hastalığıyla ilişkilendirilmiştir (186).

Bu çalışmada da benzer şekilde CMC grubunda kontrole göre selüloz ve metilselülozu degrade eden *Lachnospiraceae* familyasına ait *Marvinbryantia* cinsi (187) ve *Ruminococcaceae* familyasına ait *Fournierella* cinsi (188) anlamlı olarak baskın bulunmuştur (Şekil 4.25). Ayrıca CMC grubunda kontrole göre daha düşük

olan *Actinobacteria* sınıfına ait *Bifidobacteriaceae* familyası ve *Verrucomicrobia* sınıfına ait *Akkermanssiaceae* familyasının inülin müdahalesi ile arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.25,4.27). Lesitin grubunda ise artan *Helicobacter* varlığının inülin eklenmesiyle azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.26, 4.28).

Yapılan bir çalışmada farelere içme suyunda %1w/v oranında CMC ve P80, dokuz hafta boyunca verildiğinde *A. muciniphila* seviyesinin kontrole göre azaldığı, kolonda inflamasyona, özellikle mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olduğu bildirilmiştir. CMC ve P80 ile birlikte oral yolla uygulanan *A. muciniphila* takviyesinin ise emülgatörlerin neden olduğu düşük dereceli intestinal inflamasyonu azalttığı ve mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca, CMC ve P80'in kolonik transkriptomu değiştirdiği, *A. muciniphila*'nın ise bu değişikliklere karşı büyük ölçüde koruyucu olduğu bildirilmiştir. Kontrol grubuna verilen *A. muciniphila*'nın metabolik parametrelerde ve intestinal inflamasyonda değişikliğe neden olmaması, *A. muciniphila*'nın disbiyozisi düzelttiği ancak direkt olarak konakçı metabolizmasını etkilemediği ile açıklanmıştır (168).

A. muciniphila intestinal sistemde bol miktarda bulunmakta ve musini karbon, nitrojen ve enerji kaynağı olarak kullanabilmektedir. *Verrucomicrobia* filumuna ait tek cins olan *A. muciniphila*, bağırsak mukoza tabakasının kalınlığını arttırmakta ve bağırsak bariyer fonksiyonunu geliştirmektedir (189). *A. muciniphila* varlığı, bağırsak sağlığı ile ilişkilendirilmiş ve bu bakterinin varlığının artması ile çeşitli hastalık durumları arasında negatif korelasyon belirlenmiştir (190). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında *A. muciniphila* konsantrasyonunun azalmış olması, bu türün potansiyel antiinflamatuvar özelliklere sahip olabileceğini göstermektedir (191). İntestinal anaerob bakteri cinsi olan *A. muciniphila*, günümüzde probiyotik özelliklere sahip yeni bir fonksiyonel bakteri olarak tanımlanmaktadır (192).

Prebiyotik diyet posasının ve özellikle oligofruktozun *Akkermansia* varlığını yaklaşık 100 katına çıkardığı bildirilmiştir (193). Yapılan bir çalışmada 2,5 g/kg ve 5 g/kg standart inülin veya kısa zincirli inülin verilen farelerde bakteriyel çeşitliliğin, *Actinobacteria* filumu ve özellikle *Bifidobacteriaceae* familyasının, *A. muciniphila* düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca bütirat üreten bakteri popülasyonunun

yükseldiği, böylece bütirat üretiminin artmasıyla bağırsak sağlığının korunduğu bildirilmiştir. İntestinal mikrobiyota kompozisyonu üzerine etkilerin polimerizasyon derecesine göre değiştiği, daha düşük zincir uzunluğuna sahip olan prebiyotiğin, probiyotik bakterileri stimüle etme etkisinin daha yüksek olduğu, etkinin ayrıca doza bağımlı arttığı belirtilmiştir (155). İnülin tipi fruktanların hafif konstipasyonu olan sağlıklı yetişkinlerin fekal mikrobiyotası üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada *Bifidobacterium* spp. ve *Anaerostipes* spp. popülasyonunda artışa ve *Bilophila* popülasyonunda azalmaya neden olduğunu bildirilmiştir (48).

Faklı uzunluktaki inülinin yüksek yağlı diyetle indüklenen endotoksemi ve inflamasyon üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada hem kısa hem de uzun zincirli inülinin endotoksemiye ve inflamasyonu azaltarak olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. İnülinin KZYA üreten bakterileri ve böylece KZYA'ni artırarak antiinflamatuvar etki gösterdiği belirtilmiştir. İnülinin *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* varlığını artırması ve endotoksin sekresyonunu azaltması antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunmuştur (185). Hafif ve orta aktif ülseratif kolitli hastalara 15 g/gün oligofruktozla zenginleştirilmiş inülin verildiğinde fekal bütirat seviyesinin arttığı ve hastalık şiddeti skorunun azaldığı, ayrıca fekal *Bifidobacteriaceae* ve *Ruminococcaceae*, *Faecalibacterium* ve *Ruminococcaceae* varlığının arttığı bildirilmiştir. Hem fekal örneklerde hem de mukozal biyopsilerde temel mikrobiyota bileşiminin, bireyler arasında yüksek derecede değişkenlik gösterdiği ve hasta grupları arasında farklılık göstermediği bildirilmiştir (194).

Randomize, plasebo-kontrollü, çift kör bir çalışmada sağlıklı yetişkinlere uzun zincirli inülin (PD:25-34) verildiğinde fekal *Actinobacteria* ve *Bifidobacterium* varlığının arttığı; *Desulfovibrio*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Lachnobacterium* ve *Ruminococcus* varlığının azaldığı bildirilmiştir. Toplam diyet posası alımının fekal bütirat seviyesiyle ilişkili olduğu ve bütiratın *Bifidobacterium* ile pozitif, *Desulfovibrio* ile negatif ilişkili olduğu belirtilmiştir. Fekal örneklerinde belirlenebilir düzeyde *Bifidobacteria* olmayan kişilerin inülin alımına yanıt vermedikleri, bu durumun konakçının mikrobiyota kompozisyonunun başlangıçtaki durumu ile açıklanabileceği ifade edilmiştir (195). Bu çalışmada ise CMC grubunda artmış *Lachnospiraceae* familyasının inülin eklenmesi ile azaldığı, ayrıca *Bifidobacteriaceae*

varlığının arttığı, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* varlığının azaldığı saptanmıştır (**Şekil 4.22**).

Kısa zincirli yağ asitlerinin *Prevotellaceae_UCG_001*, *Parabacteroides* ve *Bacteroides* ile önemli ölçüde pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (196). *Prevotella* türünün, özellikle Akdeniz diyeti ve vejetaryen beslenme gibi bitkisel kaynaklardan zengin diyetle beslenen bireylerde daha yaygın olduğu, bu nedenle *Prevotella*'nın faydalı bir bakteri olabileceği belirtilmiştir (197). Bu çalışmada hem lesitin hem de CMC gruplarında inülin uygulanması sonrası *Christensenellaceae* ailesi, *Prevotellaceae_NK3B31*, *Clostridia_UCG_014*, *Prevotellaceae_UCG_001* gibi taksonomik grupların ortak olarak anlamlı derecede değiştiği görülmüştür (**Şekil 4.27, 4.28**). Özellikle CMC+inülin ve CMC grubunda lesitin gruplarına göre *Prevotellaceae* varlığının daha yüksek olduğu belirlenmiş, CMC'nin yapısı itibariyle içerdiği selülozun da bu durumda etkili olabileceği düşünülmektedir. Güncel bir çalışmada CMC ve P80'in *Prevotellaceae* varlığını azalttığı, *A. muciniphila* müdahalesinin ise bu familyayı artırdığı bildirilmiştir (168).

Başka bir çalışmada, zerdeçal polisakkaritinin profilaktik uygulamasının, dekstran sülfat sodyumun neden olduğu bağırsak mikrobiyotasının bozulmasını, triptofan metaboliti indol akrilik asit üreten *Clostridia UCG 014* lehine iyileştirdiğini bildirmiştir (198). Ayrıca *Peptostreptococcus* türleri de bağırsak epitelinin bariyer fonksiyonunu destekleyen ve inflamatuvar yanıtları hafifleten indoleakrilik asit üretmektedir. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında mikrobiyotanın musinleri parçalama ve triptofan metabolize etme yeteneği azalmıştır (199). Bu çalışmamızda ise inülinin kendi bifidojenik etkisinin dışında özellikle bariyer fonksiyonu için önemli bir bileşik olan indol akrilik asit üreten *Clostridia UCG 014* türünde artış sağladığı gösterilmiştir.

Yapılan bir çalışmada inflamatuvar sitokinlerin fırsatçı patojenler olan *Eubacterium_ruminantium*, *Eubacterium_xylanophilum* ve *Eubacterium_siraeum* ile pozitif ilişki gösterdiği bildirilmiştir (196). Bu çalışmada ise lesitin grubunda kontrole göre anlamlı baskın taksonomik grup *Eubacterium_ruminantium* olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.26**). Ancak lesitinle ilgili yapılan çalışmalar çelişkili olup, lesitin olumlu etkileri olabileceği yönünde çalışmalar da bulunmaktadır. Yapılan bir fare modeli

çalışmasında ise, kolza tohumu lesitini ve soya lesitininin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi araştırılmış ve lesitinin, kaynağı veya dozu ne olursa olsun, *Clostridium leptum* grubunun fekal bolluğunu önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (200). *F. Prausnitzii* ile bazı *Eubacterium* ve *Ruminococcus* türlerini içeren *Clostridium leptum* grubu, bütirat üreten bakteriler olarak tanımlanmıştır (201).

Tüm emülgatörlerin fiziki özellikleri ve metabolizması aynı olmadığı için etkileri de farklılık göstermektedir. Bazı bileşiklerin organizma üzerinde lipid oksidasyonunu azaltmak gibi yararlı etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Bazı sürfaktanlar, fosfolipitler, proteinler, polisakkaritler ve koloidal partiküller, lipid damlacıklarını stabilize ederek ve bunların topaklaşmasını önleyerek bu antioksidan özellikleri ortaya koyabilmektedir (113).

Polisakkaritler insanlarda kolayca hidrolize edilememekte ve dolayısıyla değişmeden kolona ulaşmaktadır. Bu nedenle mikrobiyota kompozisyonunu ve intestinal mukozayı direkt olarak etkiledikleri bildirilmiştir. CMC ile benzer şekilde karragenan ve gumların da kolon mikrobiyota kompozisyonu üzerinde önemli etkileri olduğu belirtilmiştir (111). CMC, sulu fazda yapıyı düzenleme, koyulaştırma veya jelleştirme işlevlerine sahip bir hidrokolloiddir (113). Modifiye selülozlar sindirim enzimleri tarafından parçalanmamakta ve gastrointestinal geçişleri boyunca bağırsak lümeninde mevcut kalmaktadır. CMC'nin bu özelliği nedeniyle mukusun fonksiyonel özelliklerini değiştirme ve jel yapma yeteneği bulunmaktadır. Emülgatörlerin bakterilerin hücre zarları üzerindeki etkileri veya kıvam artırıcılar tarafından besin gruplarının sağlanması, belirli bakterilerin patojenitesini değiştirebilmekte ve/veya mikrobiyotanın bileşim yapısını değiştirebilmektedir (104).

CMC emülgatör olarak sınıflandırmış olmasının yanında, bitki kaynaklı bir diyet lifi olan selülozla benzer özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, CMC'nin kolloid müşil olarak kullanıldığına dair bilgiler eskiden beri bilinmektedir. Yüksek CMC tüketiminin gastrointestinal rahatsızlıklara neden olduğu bildirilmiştir (9). JECFA başlangıçta selüloz ve türevleri için ADI değerini 25mg/kg/gün olarak belirlemiştir. Ancak daha sonra görülen gastrointestinal etkilerin selülozun kendi fiziksel özelliklerinden ve hidrofilik etkisinden kaynaklandığı belirlendiğinden ADI değerini “belirtilmemiş” olarak güncellemiştir. Aslında CMC benzeri selüloz

türevlerinin gastrointestinal etkileri önceden beri bilinmektedir (202). Bu etkilerin ileri mekanizmaları yapılan güncel çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (15,167,168).

Lesitin ise büyük çoğunluğu fosfolipitlerden oluşan bir lipid kompleksidir. Besin sanayisindeki lesitin büyük çoğunluğu (%90) soyadan elde edilmektedir. Soya lesitini ve kolza lesitini omega 3 yağ asitlerinden zengindir. Diyet fosfoliptleri lipid metabolizmasındaki olumlu etkilerinin yanında bağırsak mikrobiyotasını da güçlü bir şekilde modüle etmekte, böylece kronik metabolik hastalığın gelişiminde rol oynayan çok sayıda metabolik ve inflamatuvar süreci düzenlemektedir (200). Soya lesitini çoğunlukla lizolesitin ve serbest yağ asitleri olarak emilmektedir. Ancak dışkıda tespit edilmesi, bir kısmının kolona ulaştığını ve burada kolin ve gliserol kısımlarının bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edildiğini göstermektedir (108,203). Ayçiçeği lestininin, soya lesitine göre mikrobiyota üzerinde daha fazla olumsuz etkiye neden olduğu bildirilmiştir. Bu durumun ayçiçek lesitininin içerdiği omega-6 çoklu doymamış yağ asitleriyle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (111). Bu çalışmamızda da CMC'nin, lesitine göre mikrobiyota kompozisyonunu daha fazla olumsuz etkilediği görülmüştür. Bu nedenle gıda sanayinde sentetik emülgatörler yerine doğal emülgatör özellikli bileşiklerin kullanımlarına dikkat edilmelidir. Ancak fazla miktarda alınan lesitin koline hidrolize edildikten sonra kolon bakterileri tarafından trimetilamine dönüşmekte ve bu bileşik trimetilamin N-oksit (TMAO)'e okside olmaktadır (204). Oluşan bu bileşiğin de inflamatuvar yolları tetiklediği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca emülgatörlerin etkisinin türünden çok emülsifiye edici gücüyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Emülgatörler aynı zamanda membran çözücü özellikleriyle bilinen yüzey aktif maddeler olarak da görev yapmaktadır. Bu nedenle mikrobiyota kompozisyonunda değişikliğe neden olmadan bile bağırsak bariyer duvarını etkileyerek epitele bakteri göçünü artırabileceği bildirilmiştir (11).

Bu çalışma emülgatörlerin intestinal inflamasyon ve mikrobiyota üzerine etkilerini önlemede inülinin etkisinin incelendiği ilk çalışmadır.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Bunlar;

Çalışma bütçesi sınırlı olduğu için bu çalışmada sadece gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan emülgatörlerden CMC ve lesitin etkileri değerlendirilmiştir.

Etkinin tüm emülgatörler için genellenebilmesi, diğer emülgatörlerin tek tek veya birarada kullanımlarının değerlendirilmesi ile mümkün olacaktır.

Mikrobiyota sekans analizlerinin maliyetlerinin yüksek olması farklı emülgatörlerin ve farklı dozların çalışılmasında en büyük sınırlılık olmuştur.

Ayrıca işlenmiş besinlerde çoğunlukla birden fazla emülgatör kullanılmaktadır. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalarda sıklıkla birlikte kullanılan emülgatör ve kıvam artırıcıların sinerjik veya antagonist etkisi de değerlendirilmelidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Araştırmanın örneklemini 30 adet erkek C57Bl/6 fare oluşturmuştur. Fareler; CMC (n=6), CMC+inülin (n=6), lesitin (n=6), lesitin+inülin (n=6) ve kontrol (n=6) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Çalışmadaki hayvanların takip süresi 12 haftadır. CMC ve CMC+inülin grubundaki farelere bu süreçte CMC; lesitin ve lesitin+inülin gruplarındaki farelere ise lesitin içme sularına %1 w/v derişimle eklenerek verilmiştir. CMC+inülin ve lesitin+inülin gruplarına ise inülin 5g/kg vücut ağırlığı olacak şekilde verilmiştir. Kontrol grubu normal yeme ve suya erişim sağlamıştır.

Gıda emülgatörlerinden lesitin ve CMC ile prebiyotik olan inülinin mikrobiyota ve intestinal inflamasyon üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

1. Başlangıç vücut ağırlıkları (ortalama $16,6 \pm 2,24$ g) benzer olan farelerin 12 hafta sonunda vücut ağırlıkları (ortalama $26,5 \pm 1,86$ g) ve ağırlık kazanım oranları (ortalama $59,7 \pm 18,4$) açısından fark oluşmamıştır ($p > 0,05$).
2. İnülin verilen gruplardaki farelerin yem tüketimleri (CMC+inülin ve lesitin+inülin grupları için sırasıyla; $2,9 \pm 0,66$ g ve $3,1 \pm 0,63$ g) inülin eklenmeyen gruplardan (kontrol, CMC ve lesitin grupları için sırasıyla; $4,0 \pm 0,59$ g, $3,5 \pm 0,59$ g ve $3,4 \pm 0,45$ g) daha düşüktür ($p < 0,001$).
3. Farelerin su tüketimleri (ortalama $7,3 \pm 1,15$ ml) ve su tüketimi üzerinden hesaplanan emülgatör alım miktarları (ortalama $72,7 \pm 11,04$ mg) açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).
4. Lesitin ve CMC grubunun kolon histopatolojik skoru ($1,0 \pm 0,25$) kontrole göre ($0,0 \pm 0,0$) daha yüksek iken, inülin müdahalesi ile histopatolojik skorun düştüğü belirlenmiştir (CMC+inülin ve lesitin+inülin için sırasıyla ($0,5 \pm 0,22$; $0,7 \pm 0,21$) ($p < 0,01$).

5. Farelere CMC ($265,7 \pm 10,36 \mu\text{m}$) ve lesitin ($250,3 \pm 7,64 \mu\text{m}$) verildiğinde ince bağırsak villuslarında kontrol grubuna ($399,8 \pm 9,58 \mu\text{m}$) göre kısalma belirlenmiş, inülin tüketimi kısalan villuslarda istatistiksel olarak anlamlı bir uzama sağlamıştır ($p < 0,001$).
6. Kolon villus uzunluk ölçümlerinin CMC ($83,3 \pm 1,11 \mu\text{m}$) ve lesitin ($77,8 \pm 3,12 \mu\text{m}$) gruplarında kontrol ($103,0 \pm 4,65 \mu\text{m}$) grubundan kısa olduğu belirlenmiştir. İnülin uygulamasının kolon villuslarının (CMC+inülin, lesitin+inülin için sırasıyla; $90,3 \pm 0,91 \mu\text{m}$; $87,0 \pm 6,16 \mu\text{m}$) uzamasında etkili olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$).
7. İleum ve kolonda kontrol grubuna (sırasıyla $67,3 \pm 2,94 \mu\text{m}$, $27,8 \pm 5,49 \mu\text{m}$) göre CMC grubunda (sırasıyla $42,8 \pm 3,06 \mu\text{m}$ ve $15,3 \pm 2,50 \mu\text{m}$) ve lesitin grubunda (sırasıyla $30,7 \pm 2,58 \mu\text{m}$ ve $11,7 \pm 1,86 \mu\text{m}$) kript uzunluklarının azaldığı, inülin eklenmesi ile CMC grubunda (sırasıyla $52,7 \pm 2,80 \mu\text{m}$ ve $17,0 \pm 2,09 \mu\text{m}$) ve lesitin grubunda (sırasıyla $57,8 \pm 1,47 \mu\text{m}$ ve $16,8 \pm 1,94 \mu\text{m}$) ise kript uzunluklarının arttığı belirlenmiştir ($p < 0,001$).
8. Kontrol grubunda bağırsak lümenlerinde az miktarda bakteri kümesi gözlenmiştir. CMC ve lesitin gruplarında ise lümeninde fazla miktarda bakteri kümesi bulunmuştur. İnülin uygulamasının CMC ve lesitin verilen gruplarda bakteri yoğunluğunu azalttığı ancak tamamen düzelme sağlamadığı belirlenmiştir.
9. İleumların Masson trikrom boyamasında kontrol grubuna göre CMC ve lesitin gruplarında bağ dokuda azalma saptanmıştır. İnülin uygulamasının ise azalmış bağ dokusunda hafif de olsa artış sağladığı gözlenmiştir.
10. Kontrol grubunun kolon dokularında belirgin olan bağ doku tabakası CMC ve lesitin gruplarında belirgin ölçüde azalmış, inülin uygulamasının kolondaki bağ doku tabakası üzerine anlamlı etkisinin olmadığı saptanmıştır.
11. CMC ($40,5 \pm 0,88$) ve lesitin ($42,3 \pm 1,14$) gruplarında PAS boyamasına göre ileumların goblet hücrelerinin sayısı kontrol grubuna ($55,8 \pm 2,24$) göre belirgin şekilde azalmıştır. CMC+inülin ($54,5 \pm 0,56$) ve lesitin+inülin ($51,0 \pm 2,38$) gruplarında inülin uygulamasının goblet hücre sayısını ve büyüklüğünü artırdığı belirlenmiştir ($p < 0,001$).

12. Kolonların PAS boyamasında CMC ($89,0\pm 0,63$) ve lesitin ($92,5\pm 1,47$) gruplarında goblet hücrelerinin sayılarının kontrol grubuna ($108,8\pm 2,35$) göre belirgin şekilde azaldığı, CMC+inülin ($102,5\pm 1,23$) ve lesitin+inülin ($103,5\pm 1,66$) gruplarında inülin uygulamasının goblet hücre sayısını ve büyüklüğünü artırdığı belirlenmiştir ($p<0,001$).
13. Farelere CMC ve lesitin uygulamasının serum inflamatuvar belirteci olan IL-6 seviyesinde anlamlı değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).
14. Serum antiinflamatuvar sitokini olan IL-10 seviyesi CMC ($179,5\pm 29,47$ pg/ml) ve lesitin ($186,1\pm 25,1$ pg/ml) grubunda kontrol grubuna göre ($261,2\pm 40,52$ pg/ml) azalmışken, inülin müdahalesi ile artarak kontrol grubuna benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla $238,6\pm 40,52$ pg/ml; $220,8\pm 32,58$ pg/ml) ($p=0,001$).
15. İntestinal inflamasyonun belirteci olan fekal lipokalin-2 seviyesi kontrol grubunda $4,7\pm 3,49$ ng iken, CMC grubunda $9,7\pm 3,29$ ng'a yükselmiş, inülin uygulaması ile $4,1\pm 2,98$ ng'a düşmüştür ($p=0,012$). Diğer gruplarda fekal lipokalin seviyesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).
16. Gruplar arası gözlenen ASV'lerin dağılımı, zenginlik ve dağılımın birlikte değerlendirildiği Shannon indeksi bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).
17. Farelere CMC uygulaması kontrol grubuna göre filogenetik çeşitliliği azaltmış, inülin uygulamasının (CMC+inülin grubu) ise CMC grubuna göre filogenetik çeşitliliği artırdığı belirlenmiştir ($p=0,028$).
18. Kalitatif olarak ağırlıksız UniFrac uzaklık ölçümleri temel alındığında CMC ve lesitin gruplarında kontrole göre komünite yapısının anlamlı olarak değiştiği belirlenmiştir ($p=0,001$).
19. Lesitin veya CMC verilen farelere inülin uygulandığında komünite kompozisyonu anlamlı olarak değişmiştir (CMC vs CMC+inülin, $p=0,017$; lesitin vs lesitin+inülin, $p=0,017$).

20. Farelerin fekal örneklerinde yapılan analiz sonucu taksonomik olarak yedi farklı bakteriyal filum gözlenmiştir. Farelerin fekal mikrobiyota örneklerinde *Bacteroidetes* filumu tüm gruplarda baskın bulunmuştur. Bunu *Firmicutes* izlemekte, geri kalanı ise *Campilobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* ve *Patescibacteria* filumları oluşturmaktadır.
21. Karboksimetil selüloz ile birlikte inülin uygulanan farelerde *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobiota* filumları diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur.
22. Farelere lesitin uygulamasının kontrol grubuna göre *Campylobacterota* seviyelerinde artışa neden olduğu; inülin uygulamasının (lesitin+inülin grubu) lesitin grubuna göre *Campylobacterota* seviyelerinde azalma sağladığı belirlenmiştir.
23. Farelerin fekal mikrobiyota analizinde tüm gruplarda 28 familya olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplarda en çok *Muribaculaceae*, *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Helicobacteraceae* ve *Bacteroidaceae* familyaları bulunduğu saptanmıştır.
24. Farelere CMC verilmesinin *Actinobacteria* sınıfına ait *Bifidobacteriaceae* familyasını ve *Verrucomicrobia* sınıfına ait *Akkermansiaceae* familyasını azalttığı belirlenmiştir.
25. Lesitin ve CMC gruplarında kontrol grubuna göre azalan *Actinobacteria* sınıfına ait *Bifidobacteria* ve *Verrucomicrobiae* sınıfına ait *Akkermansia* varlığı inülin uygulamasıyla artmıştır.
26. CMC veya CMC+inülin uygulanan farelerde *Prevotellaceae* familyası kontrol ve lesitin gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur.
27. Tüm gruplarda genel olarak *Muribaculaceae*, *Lachnospiraceae_NK4A136_group*, *Helicobacter*, *Prevotellaceae_UCG-001*, *Prevotellaceae_NK3B31_group*, *Bacteroides* ve *Lachnospiraceae_UCG-001* cinsleri baskın bulunmuştur.

28. CMC+inülin verilen grupta, diğer gruplara göre *Prevotellaceae_NK3B31*, *Prevotellaceae_UCG-001* ve *Akkermansia* cinsinin görece daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
29. Farelere CMC verildiğinde kontrol grubuna göre selüloz ve metilselüloz degrade eden *Lachnospiraceae* familyasına ait *Marvinbryantia* cinsi ve *Ruminococcaceae* familyasında bulunan *Fournierella* cinsi anlamlı olarak baskın bulunmuştur.
30. CMC verilen farelerin fekal örneklerinde *Lactobacillus* varlığının önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır.
31. Lesitin grubunda kontrole göre anlamlı baskın taksonomik grubun *Eubacterium ruminantium* olduğu ve *Bifidobacterium*'da azalma olduğu belirlenmiştir.
32. Farelere lesitin uygulamasının kontrol grubuna göre *Helicobacter* varlığını artırdığı, lesitin ile birlikte inülin verildiğinde *Helicobacter* varlığı azalttığı saptanmıştır.
33. Kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde *Bifidobacterium* ve *Akkermansia* bulunan CMC grubuna inülin uygulamasının bu bakteri türlerini artırdığı bulunmuştur.
34. LefSe analizlerine göre CMC'nin lesitine göre mikrobiyal kompozisyonda olumsuz yönde daha fazla değişikliğe neden olduğu belirlenmiştir.

6.2. Öneriler

Batı tarzı beslenme yüksek yağ, doymuş yağ, hayvansal kaynaklı besinler ve işlenmiş besin tüketimini içermektedir. Batı tarzı beslenme modeliyle artan işlenmiş besin tüketimi, diyetle gıda katkı maddelerinin alımını artırmıştır. Son yıllarda Batı ülkelerinde inflamatuvar bağırsak hastalıkları prevalansının artmasının, beslenmedeki bu değişimin bir sonucu olabileceği tartışmalarını ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle güncel literatürde gıda katkı maddelerinden özellikle emülgatörlerin bağırsak sağlığı üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

1. İşlenmiş besinlerde emülgatörlerin kullanımını tamamen önlemek mümkün değildir. Bu nedenle mikrobiyota sağlığı üzerine daha az zararlı olan gıda katkı maddelerinin belirlenmesi ya da olumsuz etkileri azaltacak besin bileşenlerinin besine ve/veya beslenme modeline eklenmesi ile sağlığı koruyucu önlemlerin alınacağı düşünülmektedir.
2. Güncel literatürde farklı emülgatörlerin etkileri gösterilmiş olsa da özellikle lesitin ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Çalışmanın ileri analizlerinde bağırsak geçirgenliğinin belirteçlerinden olan sıkı bağlanma proteinlerinin düzeyleri belirlenebilir. Ayrıca mikrobiyota kompozisyonu değişikliğinin sonuçlarından olan KZYA konsantrasyonlarının incelenmesi, mikrobiyota kompozisyon değişikliği için ileri bilgi sağlayacaktır.
3. Bu sonuçlar doğrultusunda intestinal sağlığın korunması amacıyla özellikle ultra işlenmiş besinlerde kullanılan gıda emülgatörlerinin diyetle alımını sınırlandırmak ve bununla birlikte beslenme modelimizde prebiyotiklere yer vermek oldukça önemlidir. Bireylerin işlenmiş besin tüketimi ve gıda katkı maddelerinin sağlık üzerine etkileri konusunda bilgilendirilmesi, gıda ve beslenme okuryazarlığı seviyesinin artırılması ile sağlıklı besin seçimi sağlanabilir.
4. Bu çalışmanın sonuçları, ülkemizde gıdaya yönelik yetkili kurum tarafından çıkartılacak yasal düzenlemede, işlenmiş besinlerde emülgatörlerin kullanımı için üst limitlerin belirlenmesinde veya besin sanayisinde farklı prebiyotikler

kullanılarak emülgatörlerin sağlık üzerine etkilerini önlemede yeni formülasyonlar geliştirilmesinde katkıda bulunabilir.

5. Bu çalışmada seçilen gıda katkı maddesi emülgatörlerin tek başlarına etkileri değerlendirilmiştir. İşlenmiş besinlerde farklı fonksiyonlara sahip gıda katkı maddeleri çoğunlukla birden fazla kullanıldığından ve bu nedenle kümülatif bir etkinin görülmesinin olası sonuçları olduğundan, bu etkilerin değerlendirilmesi için araştırma sonuçlarımız bu konuda yapılabilecek ileri ve kapsamlı çalışmalara zemin hazırlamaktadır.
6. Gıda katkı maddelerinin besinlerde kullanılan gerçek miktarlarının bilinmesini sağlayan yasal düzenlemeler ile ülkemizde farklı yaş, cinsiyet, beslenme ve sağlık durumuna göre diyetle alınan gıda katkı maddeleri için risk değerlendirmesi yapılmalıdır. Ayrıca sadece besinler yoluyla değil, kullanılan ilaçlar, kozmetikler ve diş macunu gibi ürünler ile de gıda katkı maddeleri vücuda alınabileceği için, uzun süreli etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha kapsamlı ve iyi dizayn edilmiş çalışmalara gereksinim vardır.
7. Bununla birlikte inflamatuvar bağırsak hastalıklarına sahip bireylerde mevcut güncel çalışmalar remisyonu sağlayan kesin bir beslenme tedavisinin bulunmadığını, ancak gıda katkı maddelerinden özellikle emülgatörlerin diyetten çıkarılmasının olumlu sonuçları olabileceğini bildirmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarının klinik çalışmalarla desteklenmesi ile intestinal sağlık ve mikrobiyota üzerine etkilerine ilişkin gün geçtikçe daha fazla kanıt sunulan gıda emülgatörlerinin diyetten çıkarılmasının, tedavi açısından umut verici olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Schreiner P, Diana M, Studerus D, Vavricka SR, Tilg H, Biedermann L. Nutrition in Inflammatory Bowel Disease. *Digestion*. 2020;101(suppl 1):120–35.
2. Laudisi F, Stolfi C, Monteleone G. Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients*. 2019;11(10).
3. Malik TA. Inflammatory Bowel Disease: Historical Perspective, Epidemiology, and Risk Factors. *Surg Clin North Am*. 2015;95(6):1105–22.
4. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2017;390(23):2769–78.
5. Akram W, Garud N, Joshi R. Role of inulin as prebiotics on inflammatory bowel disease. *Drug Discov Ther*. 2019;13(1):1–8.
6. Khan I, Ullah N, Zha L, Bai Y, Khan A, Zhao T, et al. Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens*. 2019;8(126):1–28.
7. Vo TD, Lynch BS, Roberts A. Dietary Exposures to Common Emulsifiers and Their Impact on the Gut Microbiota: Is There a Cause for Concern? *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2019;18(1):31–47.
8. Cox S, Sandall A, Smith L, Rossi M, Whelan K. Food additive emulsifiers: a review of their role in foods, legislation and classifications, presence in food supply, dietary exposure, and safety assessment. *Nutr Rev*. 2020;0(0):1–16.
9. Shah R, Kolanos R, Dinovi MJ, Mattia A, Kotaro J, Kolanos R, et al. Food Additives & Contaminants : Part A Dietary exposures for the safety assessment of seven emulsifiers commonly added to foods in the United States and implications for safety. *Food Addit Contam Part A*. 2017;34(6):905–17.
10. Lecomte M, Couëdelo L, Meugnier E, Plaisancié P, Létisse M, Benoit B, et al. Dietary emulsifiers from milk and soybean differently impact adiposity and inflammation in association with modulation of colonic goblet cells in high-fat fed mice. *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(3):609–20.
11. Miclotte L, De Paepe K, Rymenans L, Callewaert C, Raes J, Rajkovic A, et al. Dietary Emulsifiers Alter Composition and Activity of the Human Gut Microbiota in vitro, Irrespective of Chemical or Natural Emulsifier Origin. *Front Microbiol*. 2020;11:577474.
12. Sandall AM, Cox SR, Lindsay JO, Gewirtz AT, Chassaing B, Rossi M, et al. Emulsifiers impact colonic length in mice and emulsifier restriction is feasible in people with Crohn’s disease. *Nutrients*. 2020;12(9):1–20.
13. Shang Q, Sun W, Shan X, Jiang H, Cai C, Hao J, et al. Carrageenan-induced colitis is associated with decreased population of anti-inflammatory bacterium,

- Akkermansia muciniphila, in the gut microbiota of C57BL/6J mice. *Toxicol Lett.* 2017;5(279):87–95.
14. Viennois E, Bretin A, Dubé PE, Maue AC, Dauriat CJG, Barnich N, et al. Dietary Emulsifiers Directly Impact Adherent-Invasive E. coli Gene Expression to Drive Chronic Intestinal Inflammation. *Cell Rep.* 2020;33(108229):1–16.
 15. Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature.* 2015;519(7541):92–6.
 16. Furuhashi H, Higashiyama M, Okada Y, Kurihara C, Wada A, Horiuchi K, et al. Dietary emulsifier polysorbate-80-induced small-intestinal vulnerability to indomethacin-induced lesions via dysbiosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35(1):110–7.
 17. Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes.* 2017;8(2):172–84.
 18. Xu D, Wu X, Gilliland M, Zheng W, Hu X, Martens E, et al. Su1996-Altered Gut Microbiota Induced by a Dietary Emulsifier Degrades the Colonic Mucus Barrier and Promotes Visceral Hypersensitivity. *Gastroenterology.* 2019;156(6):S-685.
 19. Bancil AS, Sandall AM, Rossi M, Chassaing B, Lindsay JO, Whelan K. Food Additive Emulsifiers and Their Impact on Gut Microbiome, Permeability, and Inflammation: Mechanistic Insights in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohn's Colitis.* 2021;15(6):1068–79.
 20. Schaafsma G, Slavin JL. Significance of Inulin Fructans in the Human Diet. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2015;14(1):37–47.
 21. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggianno GAD, Gasbarrini A, et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms.* 2019;7(14):1–22.
 22. Quaglio AEV, Grillo TG, De Oliveira ECS, Di Stasi LC, Sasaki LY. Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2022;28(30):4053–60.
 23. Illiano P, Brambilla R, Parolini C. The mutual interplay of gut microbiota, diet and human disease. *FEBS J.* 2020;287(5):833–55.
 24. Ottman N, Reunanen J, Meijerink M, Pietila TE, Kainulainen V, Klievink J, et al. Pili-like proteins of Akkermansia muciniphila modulate host immune responses and gut barrier function. *PLoS One.* 2017;12(3):1–18.
 25. Macchione IG, Lopetuso LR, Ianiro G, Napol M, Gibiino G, Rizzatt G, et al. Akkermansia muciniphila: Key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(18):8075–83.
 26. Png CW, Linden S, Gilshenan K, Zoetendal E, McSweeney CS, Sly L, et al. Mucolytic Bacteria With Increased Prevalence in IBD Mucosa Augment In Vitro Utilization of Mucin by Other Bacteria. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(11):2420–8.

27. Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, Watanabe H, Hayashi T, Tabata T, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* Reduce Gut Microbial Lipopolysaccharide Production and Inhibit Atherosclerosis. *Circulation*. 2018;138(22):2486–98.
28. Ratajczak W, Rył A, Mizerski A, Walczakiewicz K, Sipak O, Laszczyńska M. Immunomodulatory potential of gut microbiome-derived shortchain fatty acids (SCFAs). *Acta Biochim Pol*. 2019;66(1):1–12.
29. Knudsen KEB, Lærke HN, Hedemann MS, Nielsen TS, Ingerslev AK, Nielsen DSG, et al. Impact of diet-modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation. *Nutrients*. 2018;10:1499.
30. Martinez FAC, Balciunas EM, Converti A, Cotter PD, De Souza Oliveira RP. Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review. *Biotechnol Adv*. 2013;31(4):482–8.
31. Hennezel E, Abubucker S, Murphy LO, Cullen TW. Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll- Like Receptor Signaling. *Msystems*. 2017;2(6):1–12.
32. Malesza IJ, Malesza M, Walkowiak J, Mussin N, Walkowiak D, Aringazina R, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: A narrative review. *Cells*. 2021;10(11):1–31.
33. Jeffery IB, O'Toole PW. Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living. *Nutrients*. 2013;5(1):234–52.
34. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability - a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol*. 2014;14(1):1–25.
35. Hooper L V., Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* (80-). 2012;336(6086):1268–73.
36. Kho ZY, Lal SK. The human gut microbiome - A potential controller of wellness and disease. *Front Microbiol*. 2018;9:1–23.
37. Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and Inflammation in the Intestine. *Cell*. 2010;140(6):859–70.
38. El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota's role in health and diseases. *Environ Sci Pollut Res*. 2021;28(28):36967–83.
39. Shively CA, Register TC, Appt SE, Clarkson TB, Uberseder B, Clear KYJ, et al. Consumption of Mediterranean versus Western Diet Leads to Distinct Mammary Gland Microbiome Populations. *Cell Rep*. 2018;25(1):47–56.
40. Adler CJ, Dobney K, Weyrich LS, Kaidonis J, Walker AW, Haak W, et al. Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nat Genet*. 2013;45(4):450–5.
41. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500(7464):585–8.

42. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* (80-). 2011;334(6052):105–8.
43. Bibbò S, Ianiro G, Giorgio V, Scaldaferrì F, Masucci L, Gasbarrini A, et al. The role of diet on gut microbiota composition. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(22):4742–9.
44. Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P. Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *Proc Nutr Soc*. 2014;760(September 2014):13–22.
45. Kolodziejczyk AA, Zheng D, Elinav E. Diet–microbiota interactions and personalized nutrition. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(12):742–53.
46. Zhang P. Influence of Foods and Nutrition on the Gut Microbiome and Implications for Intestinal Health. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17).
47. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(4):1073–8.
48. Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Wang J, Sailer M, Theis S, et al. Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut*. 2017;66(11):1968–74.
49. Pujari R, Banerjee G. Impact of prebiotics on immune response: from the bench to the clinic. *Immunol Cell Biol*. 2021;99(3):255–73.
50. Knight R, Callewaert C, Marotz C, Hyde ER, Debelius JW, McDonald D, et al. The Microbiome and Human Biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2017;18:65–86.
51. Bertani B, Ruiz N. Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*. 2018;8(1):1–33.
52. Mohammad S, Thiemermann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front Immunol*. 2021;11:1–16.
53. Yang J, Zhao Y, Shao F. Non-canonical activation of inflammatory caspases by cytosolic LPS in innate immunity. *Curr Opin Immunol*. 2015;32:78–83.
54. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2010;2:161–75.
55. Manos J. The human microbiome in disease and pathology. *Apmis*. 2022;130(12):690–705.
56. Candelli M, Franza L, Pignataro G, Ojetti V, Covino M, Piccioni A, et al. Interaction between lipopolysaccharide and gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12).
57. Lindenberg FCB, Ellekilde M, Thörn AC, Kihl P, Larsen CS, Hansen CHF, et al. Dietary LPS traces influences disease expression of the diet-induced obese mouse. *Res Vet Sci*. 2019;123:195–203.

58. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *Surg Clin North Am.* 2019;99(6):1051–62.
59. Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF. Inflammatory Bowel Disease: Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(5):72–81.
60. Burisch J, Katsanos KH, Christodoulou DK, Barros L, Magro F, Pedersen N, et al. Natural Disease Course of Ulcerative Colitis during the First Five Years of Follow-up in a European Population-based Inception Cohort - An Epi-IBD Study. *J Crohn's Colitis.* 2019;13(2):198–208.
61. Aniwan S, Santiago P, Loftus E V., Park SH. The epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia and Asian immigrants to Western countries. *United Eur Gastroenterol J.* 2022;10(10):1063–76.
62. Mak WY, Zhao M, Ng SC, Burisch J. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;35(3):380–9.
63. Liu S, Zhao W, Lan P, Mou X. The microbiome in inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to therapy. *Protein Cell.* 2021;12(5):331–45.
64. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):91–9.
65. Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life.* 2019;12(2):113–22.
66. Schirmer M, Franzosa EA, Lloyd-Price J, McIver LJ, Schwager R, Poon TW, et al. Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nat Microbiol.* 2018;3(3):337–46.
67. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut.* 2011;60(5):631–7.
68. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(1):16–27.
69. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf S, Manichanh C, et al. Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010;464(7285):59–65.
70. Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, Yang ZY, Wu S, Luo WW, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World J Gastroenterol.* 2018;24(1):5–14.
71. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol.* 2018;11(1):1–10.
72. Toumi R, Samer A, Soufli I, Rafa H, Touil-Boukoffa C. Role of probiotics and their metabolites in Inflammatory Bowel Diseases (IBDs). *Gastroenterol*

- Insights. 2021;12(1):56–66.
73. Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaïss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(4):219–32.
 74. Ghouri YA, Tahan V, Shen B. Secondary causes of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2020;26(28):3998–4017.
 75. Van Der Sloot KWJ, Amini M, Peters V, Dijkstra G, Alizadeh BZ. Inflammatory Bowel Diseases: Review of Known Environmental Protective and Risk Factors Involved. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(9):1499–509.
 76. Las Heras V, Melgar S, MacSharry J, Gahan CGM. The Influence of the Western Diet on Microbiota and Gastrointestinal Immunity. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2022;13:489–512.
 77. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(33):14691–6.
 78. Zinöcker MK, Lindseth IA. The western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients.* 2018;10(3):1–15.
 79. Roberts CL, Rushworth SL, Richman E, Rhodes JM. Hypothesis: Increased consumption of emulsifiers as an explanation for the rising incidence of Crohn’s disease. *J Crohn’s Colitis.* 2013;7(4):338–41.
 80. Sigall-Boneh R, Levine A, Lomer M, Wierdsma N, Allan P, Fiorino G, et al. Research gaps in diet and nutrition in inflammatory bowel disease. A topical review by D-ECCO working group [Dietitians of ECCO]. *J Crohn’s Colitis.* 2017;11(12):1407–19.
 81. Bischoff SC, Escher J, Hébuterne X, Kłęk S, Krznaric Z, Schneider S, et al. ESPEN practical guideline: Clinical Nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin Nutr.* 2020;39(3):632–53.
 82. Lo CH, Khandpur N, Rossato SL, Lochhead P, Lopes EW, Burke KE, et al. Ultra-processed Foods and Risk of Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis: A Prospective Cohort Study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2022;20(6):e1323–37.
 83. Narula N, Wong ECL, Dehghan M, Mente A, Rangarajan S, Lanas F, et al. Association of ultra-processed food intake with risk of inflammatory bowel disease: Prospective cohort study. *BMJ.* 2021;374(1554):1–11.
 84. Limdi JK, Aggarwal D, McLaughlin JT. Dietary Practices and Beliefs in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(1):164–70.
 85. Levine A, Wine E, Assa A, Sigall Boneh R, Shaoul R, Kori M, et al. Crohn’s Disease Exclusion Diet Plus Partial Enteral Nutrition Induces Sustained Remission in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology.* 2019;157(2):440–450.e8.
 86. Bhattacharyya S, Shumard T, Xie H, Dodda A, Varady KA. A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity.

- Nutr Heal Aging. 2017;4:181–92.
87. Sigall-Boneh R, Pfeffer-Gik T, Segal I, Zangen T, Boaz M, Levine A. Partial enteral nutrition with a Crohn's disease exclusion diet is effective for induction of remission in children and young adults with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(8):1353–60.
 88. Yanai H, Levine A, Hirsch A, Sigal-Boneh R, Kopylov U, Banai-Eran H, et al. The Crohn's disease exclusion diet for induction and maintenance of remission in adults with mild-to-moderate Crohn's disease (CDED-AD): an open-label, pilot, randomised trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022;7(1):49–59.
 89. Sigall Boneh R, Van Limbergen J, Wine E, Assa A, Shaoul R, Milman P, et al. Dietary Therapies Induce Rapid Response and Remission in Pediatric Patients With Active Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2021;19(4):752–9.
 90. Szczubętek M, Pomorska K, Korólczyk-Kowalczyk M, Lewandowski K, Kaniewska M, Rydzewska G. Effectiveness of crohn's disease exclusion diet for induction of remission in crohn's disease adult patients. *Nutrients.* 2021;13(11):1–9.
 91. Levine A, Rhodes JM, Lindsay JO, Abreu MT, Kamm MA, Gibson PR, et al. Dietary Guidance From the International Organization for the Study of Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(6):1381–92.
 92. Bischoff SC, Bager P, Escher J, Forbes A, Hébuterne X, Hvas CL, et al. ESPEN guideline on Clinical Nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin Nutr.* 2023;42(3):352–79.
 93. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(5):288–98.
 94. Monteiro CA, Cannon G, Lawrence M, Costa Louzada ML, Machado PP. Ultra-processed foods, diet quality, and health using the NOVA classification system. Rome, FAO. 2019.
 95. Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):5–17.
 96. Baraldi LG, Martinez Steele E, Canella DS, Monteiro CA. Consumption of ultra-processed foods and associated sociodemographic factors in the USA between 2007 and 2012: Evidence from a nationally representative cross-sectional study. *BMJ Open.* 2018;8(3).
 97. Machado PP, Steele EM, Levy RB, da Costa Louzada ML, Rangan A, Woods J, et al. Ultra-processed food consumption and obesity in the Australian adult population. *Nutr Diabetes.* 2020;10(39).
 98. Crimarco A, Landry MJ, Gardner CD. Ultra-processed Foods, Weight Gain, and Co-morbidity Risk. *Curr Obes Rep.* 2022;11(3):80–92.
 99. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 13.10.2023-32338. Erişim <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2023/10/20231013M1-1.htm>.

100. Chazelas E, Deschasaux M, Srouf B, Kesse-Guyot E, Julia C, Alles B, et al. Food additives: distribution and co-occurrence in 126,000 food products of the French market. *Sci Rep.* 2020;10(3980):1–15.
101. Codex Alimentarius. Class names and the international numbering system for food additives. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, and World Health Organization, Geneva. 2021. Report No: CXG 36-1989.
102. Gultekin F, Eser_Oner M, Savas HB, Dogan B. Food Additives And Microbiota. *North Clin Istanbul.* 2020;7(2):192–200.
103. Berton-Carabin CC, Sagis L, Schroën K. Formation, Structure, and Functionality of Interfacial Layers in Food Emulsions. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2018;9:551–87.
104. Halmos EP, Mack A, Gibson PR. Review article: emulsifiers in the food supply and implications for gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(1):41–50.
105. Food and Drug Administration (FDA). <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/food-additive-status-list>. Son erişim tarihi: 31 Aralık 2023.
106. Food and Agriculture Organization, World Health Organization. CODEX Alimentarius: International Food Standards. Class names and the international numbering system for food additives. Report no. CXG 36-1989. 2021.
107. Partridge D, Lloyd KA, Rhodes JM, Walker AW, Johnstone AM, Campbell BJ. Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health – introducing the FADiets study. *Nutr Bull.* 2019;44(4):329–49.
108. EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), Mortensen A, Aguilar F, Crebelli R, Di Domenico A, Frutos MJ, Galtier P, et al. Re-evaluation of lecithins (E 322) as a food additive. *EFSA Journal* 2017;15(3): 4742, 83.
109. World Health Organization. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Available from: <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/>
110. Younes M, Aggett P, Aguilar F, Crebelli R, Di Domenico A, Dusemund B, et al. Re-evaluation of celluloses E 460(i), E 460(ii), E 461, E 462, E 463, E 464, E 465, E 466, E 468 and E 469 as food additives. *EFSA J.* 2018;16(1):5047.
111. Naimi S, Viennois E, Gewirtz AT, Chassaing B. Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota. *Microbiome.* 2021;9(1):1–19.
112. Jin G, Tang Q, Ma J, Liu X, Zhou B, Sun Y, et al. Maternal Emulsifier P80 Intake Induces Gut Dysbiosis in Offspring and Increases Their Susceptibility to Colitis in Adulthood. *mSystems.* 2021;6(2):1–19.
113. De Siena M, Raoul P, Costantini L, Scarpellini E, Cintoni M, Gasbarrini A, et al. Food Emulsifiers and Metabolic Syndrome: The Role of the Gut Microbiota. *Foods.* 2022;11(15):1–20.

114. European Food Safety Authority (EFSA). Afonso A, Garica Matas R, Germini A, Merten C and Robinson T. Technical report on EFSA's activities on emerging risks in 2015. EFSA supporting publication 2016:EN-1100.
115. Quigley EMM. Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(2):333–44.
116. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell.* 2017;167(5):1339–53.
117. Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. Dietary fibre in foods: A review. *J Food Sci Technol.* 2012;49(3):255–66.
118. Food and Agriculture Organization, World Health Organization. CODEX Alimentarius: Guidelines on Nutrition Labelling; 2021 Report no.CXG 2-1985.
119. Thompson HJ, Brick MA. Perspective : Closing the Dietary Fiber Gap : An Ancient Solution for a 21st Century Problem. *Adv Nutr.* 2016;7(4):623–6.
120. Jones JM. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap.' *Nutr J.* 2014;13(34).
121. Stribling P, Ibrahim F. Dietary fibre definition revisited - The case of low molecular weight carbohydrates. *Clin Nutr ESPEN.* 2023;55:340–56.
122. Gill SK, Rossi M, Bajka B, Whelan K. Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(2):101–16.
123. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods.* 2019;8(3):1–27.
124. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(8):491–502.
125. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(10):605–16.
126. Portincasa P, Bonfrate L, Vacca M, De Angelis M, Farella I, Lanza E, et al. Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids: Implications in Glucose Homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3).
127. Newton K, Dixit VM. Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4(3).
128. Pham VT, Seifert N, Richard N, Raederstorff D, Steinert R, Prudence K, et al. The effects of fermentation products of prebiotic fibres on gut barrier and immune functions in vitro. *PeerJ.* 2018;2018(8).
129. Montegudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2019;103(16):6463–72.

130. Yadav MK, Kumari I, Singh B, Sharma KK, Tiwari SK. Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2022;106(2):505–21.
131. Salazar N, Dewulf EM, Neyrinck AM, Bindels LB, Cani PD, Mahillon J, et al. Inulin-type fructans modulate intestinal *Bifidobacterium* species populations and decrease fecal short-chain fatty acids in obese women. *Clin Nutr.* 2015;34(3):501–7.
132. Vulevic J, Juric A, Walton GE, Claus SP, Tzortzis G, Toward RE, et al. Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabolomics in elderly persons. *Br J Nutr.* 2015;114(4):586–95.
133. Birkeland E, Gharagozlian S, Birkeland KI, Valeur J, Måge I, Rud I, et al. Prebiotic effect of inulin-type fructans on faecal microbiota and short-chain fatty acids in type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Eur J Nutr.* 2020;59(7):3325–38.
134. Li HY, Zhou DD, Gan RY, Huang SY, Zhao CN, Shang A, et al. Effects and Mechanisms of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients.* 2021;13(3211).
135. Tsai YL, Lin TL, Chang CJ, Wu TR, Lai WF, Lu CC, et al. Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases. *J Biomed Sci.* 2019;26(1):1–8.
136. Ahmed W, Rashid S. Functional and therapeutic potential of inulin: A comprehensive review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(1):1–13.
137. Atta AJ, Elkoly TA, Mouneir SM, Kamel G, Alwabel NA, Zaher S. Hepatoprotective effect of methanol extracts of *Zingiber officinale* and *Cichorium intybus*. *Indian J Pharm Sci.* 2010;72(5):564–70.
138. Mulabagal V, Wang H, Ngouajio M, Nair MG. Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties. *Eur Food Res Technol.* 2009;230(1):47–53.
139. Martins GN, Ureta MM, Tymczynszyn EE, Castilho PC, Gomez-Zavaglia A. Technological aspects of the production of fructo and galacto-oligosaccharides. Enzymatic synthesis and hydrolysis. *Front Nutr.* 2019;6(May).
140. Tawfick MM, Xie H, Zhao C, Shao P, Farag MA. Inulin fructans in diet: Role in gut homeostasis, immunity, health outcomes and potential therapeutics. *Int J Biol Macromol.* 2022;208(March):948–61.
141. Thomson C, Garcia AL, Edwards CA. Interactions between dietary fibre and the gut microbiota. *Proc Nutr Soc.* 2021;80(4):398–408.
142. Flamm G, Glinsmann W, Kritchevsky D, Prosky L, Roberfroid M. Inulin and oligofructose as dietary fiber: A review of the evidence. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2001;41(5):353–62.
143. Golzarand M, Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Inulin intake and the incidence of cardiometabolic diseases: a prospective cohort study. *Food Funct.* 2022;10516–24.

144. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to “native chicory inulin” and maintenance of normal defecation by increasing stool frequency pursuant to Article 13.5 of Re. EFSA J. 2015;13(1):3951.
145. Bruhwiler J, Carreer F, Demanet E, Jacobs H. Digestive tolerance of inulin-type fructans: a double-blind, placebo-controlled, cross-over, dose-ranging, randomized study in healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr*. 2009;60(2):165–75.
146. Hughes RL, Alvarado DA, Swanson KS, Holscher HD. The Prebiotic Potential of Inulin-Type Fructans: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2022;13(2):492–529.
147. Qin YQ, Wang LY, Yang XY, Xu YJ, Fan G, Fan YG, et al. Inulin: properties and health benefits. *Food Funct*. 2023;14(7):2948–68.
148. Sheng W, Ji G, Zhang L. Immunomodulatory effects of inulin and its intestinal metabolites. *Front Immunol*. 2023;14:1–16.
149. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*. 2016;165(6):1332–45.
150. He J, Xie H, Chen D, Yu B, Huang Z, Mao X, et al. Synergetic responses of intestinal microbiota and epithelium to dietary inulin supplementation in pigs. *Eur J Nutr*. 2021;60(2):715–27.
151. Qiao H, Zhao T, Yin J, Zhang Y, Ran H, Chen S, et al. Structural Characteristics of Inulin and Microcrystalline Cellulose and Their Effect on Ameliorating Colitis and Altering Colonic Microbiota in Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitic Mice. *ACS Omega*. 2022;7(13):10921–32.
152. Shan M, Gentile M, Yeiser JR, Walland AC, Victor U, Chen K, et al. Mucus Enhances Gut Homeostasis and Oral Tolerance by Delivering Immunoregulatory Signals. *Science (80-)*. 2013;342(6157):447–53.
153. Zou YF, Li CY, Fu YP, Feng X, Peng X, Feng B, et al. Restorative Effects of Inulin From *Codonopsis pilosula* on Intestinal Mucosal Immunity, Anti-Inflammatory Activity and Gut Microbiota of Immunosuppressed Mice. *Front Pharmacol*. 2022;13:786141.
154. Ferreira-Halder CV, Faria AV de S, Andrade SS. Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(6):643–8.
155. Zhu L, Qin S, Zhai S, Gao Y, Li L. Inulin with different degrees of polymerization modulates composition of intestinal microbiota in mice. *FEMS Microbiol Lett*. 2017;364(10):1–7.
156. Le Bastard Q, Chapelet G, Javaudin F, Lepelletier D, Batard E, Montassier E. The effects of inulin on gut microbial composition: a systematic review of evidence from human studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(3):403–13.
157. Podkowa A, Gawliński D, Gawlińska K, Muszyńska B, Opoka W. Impact of Dams’ Diet on the Levels of Magnesium and Zinc in the Incisors of Offspring

- Rats. *Acta Pol Pharm - Drug Res.* 2022;79(1):97–104.
158. Viennois E, Merlin D, Gewirtz AT, Chassaing B. Dietary emulsifier-induced low-grade inflammation promotes colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 2017;77(1):27–40.
 159. Hoentjen F, Welling GW, Harmsen HJM, Zhang X, Snart J, Tannock GW, et al. Reduction of colitis by prebiotics in HLA-B27 transgenic rats is associated with microflora changes and immunomodulation. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11(11):977–85.
 160. Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Chem.* 2005;51(12):2415–8.
 161. Diler Ö, Özil Ö, Bayrak H, Yiğit NÖ, Özmen Ö, Saygın M, et al. Effect of dietary supplementation of sumac fruit powder (*Rhus coriaria* L.) on growth performance, serum biochemistry, intestinal morphology and antioxidant capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Anim Feed Sci Technol.* 2021;278(May).
 162. Jeske JT, Gallert C. Microbiome Analysis via OTU and ASV-Based Pipelines—A Comparative Interpretation of Ecological Data in WWTP Systems. *Bioengineering.* 2022;9(146):2–17.
 163. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol.* 2019;37(8):852–7.
 164. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* 2016;13(7):581–3.
 165. Schloss PD. Amplicon Sequence Variants Artificially Split Bacterial Genomes into Separate Clusters. *mSphere.* 2021;6(4):2–7.
 166. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 2011;12(6):R60.
 167. Viennois E, Chassaing B. Consumption of select dietary emulsifiers exacerbates the development of spontaneous intestinal adenoma. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5):1–15.
 168. Daniel N, Gewirtz AT, Chassaing B. *Akkermansia muciniphila* counteracts the deleterious effects of dietary emulsifiers on microbiota and host metabolism. *Gut.* 2023;72:906–17.
 169. Chen JP, Chen GC, Wang XP, Qin L, Bai Y. Dietary fiber and metabolic syndrome: A meta-analysis and review of related mechanisms. *Nutrients.* 2018;10(24):1–17.
 170. Schäfer AL, Eichhorst A, Hentze C, Kraemer AN, Amend A, Sprenger DTL, et al. Low Dietary Fiber Intake Links Development of Obesity and Lupus Pathogenesis. *Front Immunol.* 2021;12:696810.
 171. Shao T, Yu Q, Zhu T, Liu A, Gao X, Long X, et al. Inulin from Jerusalem

- artichoke tubers alleviates hyperglycaemia in high-fat-diet-induced diabetes mice through the intestinal microflora improvement. *Br J Nutr.* 2020;123(3):308–18.
172. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J.* 2008;22(3):659–61.
 173. Chassaing B, Compher C, Bonhomme B, Liu Q, Tian Y, Walters W, et al. Randomized Controlled-Feeding Study of Dietary Emulsifier Carboxymethylcellulose Reveals Detrimental Impacts on the Gut Microbiota and Metabolome. *Gastroenterology.* 2022;162(3):743–56.
 174. Michielan A, D’Inca R. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. *Mediators Inflamm.* 2015;1–10.
 175. Swidsinski A, Ung V, Sydora BC, Loening-Baucke V, Doerffel Y, Verstraelen H, et al. Bacterial overgrowth and inflammation of small intestine after carboxymethylcellulose ingestion in genetically susceptible mice. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(3):359–64.
 176. Liu TW, Cephas KD, Holscher HD, Kerr KR, Mangian HF, Tappenden KA, et al. Nondigestible fructans alter gastrointestinal barrier function, gene expression, histomorphology, and themicrobiota profiles of diet-induced obese C57BL/6J Mice. *J Nutr.* 2016;146(5):949–56.
 177. Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp Mol Med.* 2018;50:103.
 178. Okumura R, Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm Regen.* 2018;38(1):1–8.
 179. Singh RK. Food Additive P-80 Impacts Mouse Gut Microbiota Promoting Intestinal Inflammation, Obesity and Liver Dysfunction. *SOJ Microbiol Infect Dis.* 2016;4(1):01–10.
 180. Wang Y, Huang B, Jin T, Ocansey DKW, Jiang J, Mao F. Intestinal Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease and the Prospects of Mesenchymal Stem Cell Therapy. *Front Immunol.* 2022;13:835005.
 181. Yao D, Dong M, Dai C, Wu S. Inflammation and Inflammatory Cytokine Contribute to the Initiation and Development of Ulcerative Colitis and Its Associated Cancer. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(10):1595–602.
 182. Amoroso C, Perillo F, Strati F, Fantini MC, Caprioli F, Facciotti F. The Role of Gut Microbiota Biomodulators on Mucosal Immunity and Intestinal Inflammation. *Cells.* 2020;9(5):1–24.
 183. Chassaing B, Van De Wiele T, De Bodt J, Marzorati M, Gewirtz AT. Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation. *Gut.* 2017;66(8):1414–27.
 184. Li A li, Ni W wei, Li Y, Zhang X, Yang J jie, Ma X yang, et al. Effect of 2'-fucosyllactose supplementation on intestinal flora in mice with intestinal inflammatory diseases. *Int Dairy J.* 2020;110:104797.

185. Li LL, Wang YT, Zhu LM, Liu ZY, Ye CQ, Qin S. Inulin with different degrees of polymerization protects against diet-induced endotoxemia and inflammation in association with gut microbiota regulation in mice. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–12.
186. Binda C, Lopetuso LR, Rizzatti G, Gibiino G, Cennamo V, Gasbarrini A. Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Dig Liver Dis.* 2018;50(5):421–8.
187. Wolin MJ, Miller TL, Collins MD, Lawson PA. Formate-Dependent Growth and Homoacetogenic Fermentation by a Bacterium from Human Feces: Description of *Bryantella formatexigens* gen. nov., sp. nov. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(10):6321–6.
188. Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes.* 2012;3(4):289–306.
189. Zhai Q, Feng S, Arjan N, Chen W. A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(19):3227–36.
190. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog.* 2017;106:171–81.
191. Zhang T, Ji X, Lu G, Zhang F. The potential of *Akkermansia muciniphila* in inflammatory bowel disease. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2021;105:5785–94.
192. Zhang T, Li Q, Cheng L, Buch H, Zhang F. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic. *Microb Biotechnol.* 2019;12(6):1109–25.
193. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(22):9066–71.
194. Valcheva R, Koleva P, Martínez I, Walter J, Gänzle MG, Dieleman LA. Inulin-type fructans improve active ulcerative colitis associated with microbiota changes and increased short-chain fatty acids levels. *Gut Microbes.* 2019;10(3):334–57.
195. Holscher HD, Bauer LL, Gourineni V, Pelkman CL, Fahey GC, Swanson KS. Agave inulin supplementation affects the fecal microbiota of healthy adults participating in a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *J Nutr.* 2015;145(9):2025–32.
196. Zhu H, Jiang W, Liu C, Wang C, Hu B, Guo Y, et al. Ameliorative effects of chlorogenic acid on alcoholic liver injury in mice via gut microbiota informatics. *Eur J Pharmacol.* 2022;928(175096):1–11.
197. Ley RE. Gut microbiota in 2015: *Prevotella* in the gut: Choose carefully. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(2):69–70.
198. Yang C, Du Y, Ren D, Yang X, Zhao Y. Gut microbiota-dependent catabolites of tryptophan play a predominant role in the protective effects of turmeric polysaccharides against DSS-induced ulcerative colitis. *Food Funct.* 2021;12(20):9793–807.
199. Wlodarska M, Luo C, Kolde R, D’Hennezel E, Annand JW, Heim CE, et al.

- Indoleacrylic Acid Produced by Commensal *Peptostreptococcus* Species Suppresses Inflammation. *Cell Host Microbe*. 2017;22(1):25-37.e6.
200. Robert C, Buisson C, Laugerette F, Abrous H, Rainteau D, Humbert L, et al. Impact of Rapeseed and Soy Lecithin on Postprandial Lipid Metabolism, Bile Acid Profile, and Gut Bacteria in Mice. *Mol Nutr Food Res*. 2021;65(9):1–10.
 201. Caenepeel C, Sadat Seyed Tabib N, Vieira-Silva S, Vermeire S. Review article: how the intestinal microbiota may reflect disease activity and influence therapeutic outcome in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52(9):1453–68.
 202. SCF (Scientific Committee on Food). Opinion on re- evaluation of five modified celluloses, Reports of the scientific committee on food 32nd. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 1992.
 203. Tang WHW, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease Find the latest version : The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4204–11.
 204. Louck LE, Cara KC, Klatt K, Wallace TC, Chung M. The Relationship of Circulating Choline and Choline-Related Metabolite Levels with Health Outcomes: A Scoping Review of Genome-Wide Association Studies and Mendelian Randomization Studies. *Adv Nutr*. 2024;15(2):100164.

8. EKLER

EK-1: Etik Kurul Onayı



BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
17.03.2021	87	735

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 17.03.2021 tarihinde Saat 10:30'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır:

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nden Arş. Gör. Cansu BEKAR'ın yürütücü ve Prof. Dr. Aylin AYAZ ile Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'in yardımcı araştırmacı olarak görev aldığı 'Gıda Emülgatörleri ve İnülinin Farelerde İntestinal Mikrobiyota Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi' başlıklı çalışma,

HAYVAN TÜRÜ	HAYVAN SAYISI	SOY / IRK	CİNSİYET	YAS	AGIRLIK SINIRI
Fare	30	C57Bl/6	Erkek	4 Hafta	10g

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

EK-2: TUBİTAK Proje Kabul Yazısı

T.C.
TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU BAŞKANLIĞI
Araştırma Destek Programları Başkanlığı

Sayı : B.14.2.TBT.0.06.03.02-161-436

17/08/2021

Konu : 221S218 Numaralı Proje Karar Yazısı

Sayın Cansu BEKAR

"1002-Hızlı Destek Programı" kapsamında Kurumumuza sunmuş olduğunuz 221S218 numaralı ve "Gıda Emülgatörleri Ve İnülinin Farelerde İntestinal Mikrobiyota Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi" başlıklı projenize ilişkin değerlendirme süreci tamamlanmıştır.

Desteklenmesine karar verilen proje önerinizin ilgili mevzuat çerçevesinde, mali ve benzeri konularda değerlendirme çalışmalarına başlanmıştır. Süreç tamamlandığında projelere ait sözleşme ve diğer belgeler imzalanmak üzere tarafınıza gönderilecektir.

Çalışmalarınızda başarılar diler, saygılar sunarım.

Doç. Dr. Nazife Selcan TÜRKER
Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu
(SBAG)
Grup Koordinatörü

PANEL PUAN SEVİYESİ: B

A: Çok İyi B: İyi C: Orta D: İyi Değil E: Yetersiz

Panel toplam puanı A ve B seviyesinde olan projeler desteklenmiştir.

EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu**Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Cansu BEKAR
Ödev başlığı: GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE İNTESTİNAL ...
Gönderi Başlığı: Cansu Bekar_Doktora tez._3 Mayıs_2024_TURNİTİN.docx
Dosya adı: Cansu_Bekar_Doktora_tez._3_Mayıs_2024_TURNİTİN.docx
Dosya boyutu: 8.35M
Sayfa sayısı: 92
Kelime sayısı: 18,256
Karakter sayısı: 138,421
Gönderim Tarihi: 03-May-2024 10:52ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 2369679364

T.C.
BAĞIŞLAMA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE
İNTESTİNAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzm. Dyt. Cansu BEKAR

Bilimsel ve Dijital Program
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayhan AYAZ

ANKARA
2024

GIDA EMÜLGATÖRLERİ VE İNÜLİNİN FARELERDE İNTESTİNAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.docx

ORJİNALLIK RAPORU

%5 BENZERLİK ENDEKSİ	%4 İNTERNET KAYNAKLARI	%3 YAYINLAR	%0 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	----------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	peerj.com İnternet Kaynağı	%1
2	acikerisim.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
3	www.dokuzeylul.com İnternet Kaynağı	<%1
4	gazi-universitesi.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	earsiv.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	sbgymehmetakif.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	YÜCE, Salim, KARAKUŞ, Canan Filiz, DOĞAN, Mansur and UYSAL, İsmail.Önder. "Dev rinolit: olgu sunumu", Süleyman Demirel Üniversitesi, 2014. Yayın	<%1

9. ÖZGEÇMİŞ