



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



SIÇANLARDA ERKEN DÖNEMDE TARTRAZİNE MARUZİYETİN MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ

Özlem ÇETİNER

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA ERKEN DÖNEMDE TARTRAZİNE
MARUZİYETİN MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ**

Özlem ÇETİNER

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN**

**ANKARA
2023**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Sıçanlarda Erken Dönemde Tartrazine Maruziyetin Mikrobiyota Üzerine Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Özlem ÇETİNER

Tarih: 14.12.2023

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında

Özlem ÇETİNER tarafından hazırlanan

“Sıçanlarda Erken Dönemde Tartrazine Maruziyetin Mikrobiyota Üzerine Etkisi” adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.12.2023

Prof. Dr. Hilal Yıldırım

Gazi Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nurcan Yabancı Ayhan

Ankara Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Alev Keser

Ankara Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Hülya Yardımcı

Ankara Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Murat Kavruk

İstanbul Aydın Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu
tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen Aktan

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Sıçanlarda Erken Dönemde Tartrazine Maruziyetin Mikrobiyota Üzerine Etkisi

Gıda katkı maddeleri, tüm dünyada yaygın olarak besin endüstrisinde kullanılmaktadır. Limon sarısı rengi vermek için kullanılan bir azo boya olan tartrazin de alkolstüz içecekler, cips, hazır puding, bal, turşu, sakız, hardal, jelatin ve fırınlanmış ürünlerin renklendirilmesinde sıklıkla tercih edilen bir gıda katkı maddesidir. Alerji, astım, deri kızarıklıkları, hiperaktivite ve migrene sebep olması gerekçesiyle bazı ülkelerde kullanımı yasaklanan tartrazinin, Türkiye ve diğer pek çok ülkede kullanımı halen devam etmektedir. Gıda katkı maddeleri de dahil olmak üzere besin yoluyla gastrointestinal sisteme alınan pek çok organik ve inorganik ögenin intestinal floranın şekillenmesinde etkileri olabileceği güncel literatürde çokça tartışılmıştır. Çocukların diyetinde yaygın olarak bulunabilen tüketime hazır besinlerde tartrazinin bulunabildiği bilinmektedir. Bu sebeplerle tartrazinin, peripubertal dönemde intestinal florayı şekillendirmede etken bir değişken olabileceği ve hastalıklarla ilişkisi daha önceki çalışmalarda gösterilen bakteri suşlarının artışında rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bu hipotezi test etmek amacıyla 6 haftalık 16 erkek, 16 dişi toplamda 32 adet Wistar albino sıçan, tartrazin grubu ve kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Erişkin çağa kadar standart pellet diyeti veya 7,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün tartrazin ilave edilmiş su ve standart pellet diyeti ile ad libitum beslenen sıçanlardan 12 hafta boyunca haftada bir kez dışkı örneği toplanmış ve vücut ağırlığı değişimleri haftalık olarak takip edilmiştir. Tartrazinin sıçanlara verilmesi sonrasında sindirim sistemi mikrobiyotasında meydana gelen değişimler, yeni nesil dizileme tekniği ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, erkek sıçanlarda tartrazin tüketimi, vücut ağırlığı artış oranını (%) kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaltmıştır ($p < 0,001$). Tartrazin müdahalesiyle bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişiklikler, cinsiyete bağlı farklılık göstermiştir. Buna göre tartrazin, erkek sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla *Proteobacteria* filumunda klinik açıdan önemli bir artış meydana getirirken; dişi sıçanlarda aynı filumdaki zamana bağlı artış, kontrol grubunun gerisinde kalmıştır. Erkek sıçanlarda, tartrazin müdahalesiyle *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumlarında düşüş gözlemlenirken; dişi sıçanlarda *Bacteroidetes* artmış, *Firmicutes* ise, kontrol ve müdahale gruplarının ikisinde de azalmış olmasına karşın kontrol grubunun deney sonu oranı, müdahale grubunun altında kalmıştır. Başlangıç noktasına kıyasla deney sonunda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı, erkek sıçanlarda iki grupta da artarken, kontrol grubunda, müdahale grubuna kıyasla klinik olarak daha anlamlı bir değişim meydana gelmiştir. Dişi sıçanlarda ise tartrazin müdahalesi *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını düşürmüştür. Son olarak, bakteri çeşitliliğinin değerlendirilmesinde kullanılan Shannon indeksi, tartrazin müdahalesi alan erkek sıçanlarda azalırken ($p < 0,001$) dişilerde artış göstermiştir ($p < 0,001$). Bu veriler, günlük kabul edilebilir limitte dahi tartrazin tüketiminin, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu üzerinde etkili olabileceğine dikkat çekmektedir. Tartrazin etkisiyle mikrobiyotada meydana gelen değişikliklerin konak sağlığı üzerindeki olası etkilerinin yapılacak ileri çalışmalarda irdelenmesi önerilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Gıda katkı maddeleri, mikrobiyota, sıçan, tartrazin



SUMMARY

The Effect of Tartrazine Exposure on Microbiota During Early Periods of Life

Food additives are widely used in the food industry all over the world. Tartrazine, an azo dye used to give a lemon yellow color, is a frequently preferred food additive for coloring soft drinks, chips, instant pudding, honey, pickles, chewing gum, mustard, gelatin and baked goods. Tartrazine has been banned in some countries for causing allergies, asthma, skin rashes, hyperactivity and migraines, but is still used in Turkey and many other countries. It has been widely discussed in the current literature that many organic and inorganic elements taken into the gastrointestinal tract through food, including food additives, may have effects on the shaping of intestinal flora. It is known that tartrazine may be present in ready-to-eat foods that are commonly found in the diet of children. For these reasons, it has been hypothesized that tartrazine may be an active variable in shaping the intestinal flora in the peripubertal period and may play a role in the increase of bacterial strains whose association with diseases has been shown in previous studies. In order to test this hypothesis, 32 Wistar albino rats, 16 male and 16 female, 6 weeks old, were divided into two groups as tartrazine group and control group. Fecal samples were collected once a week for 12 weeks from rats fed ad libitum with standard pellet diet or 7.5 mg/kg body weight/day tartrazine supplemented water and standard pellet diet until adulthood and body weight changes were monitored weekly. Changes in the microbiota of the digestive tract after administration of tartrazine to rats were analyzed by next generation sequencing technique. According to the results, in male rats, tartrazine consumption significantly decreased the rate of body weight gain (%) compared to the control group ($p < 0.001$). Changes in the gut microbiota induced by tartrazine intervention differed depending on sex. Accordingly, tartrazine induced a clinically significant increase in the *Proteobacteria* phylum in male rats compared to the control group, while the time-dependent increase in the same phylum in female rats lagged behind the control group. In male rats, tartrazine intervention decreased *Firmicutes* and *Bacteroidetes* phyla. In female rats *Bacteroidetes* increased while *Firmicutes* decreased in both control and intervention groups, although the end-of-experiment rate of the control group remained below that of the intervention group. In male rats, compared to baseline, the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio increased at the end of the experiment in both groups, with a more clinically significant change in the control group compared to the intervention group. In female rats however, tartrazine intervention decreased the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio. Finally, the Shannon index, which is used to assess bacterial diversity, decreased in tartrazine-treated male rats ($p < 0.001$) and increased in female rats ($p < 0.001$). These data indicate that tartrazine consumption, even at an acceptable daily limit, may have an effect on the composition of the gut microbiota. It is recommended that the possible effects of tartrazine-induced changes in microbiota on host health should be examined in further studies.

Keywords: Food additives, mikrobiota, rat, tartrazine



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	vi
İçindekiler	viii
Önsöz	x
Simgeler ve Kısaltmalar	xi
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Mikrobiyotanın Tanımı ve Kapsamı	1
1.1.1. Bağırsak Mikrobiyotasında Yaygın Bulunan Canlıların Taksonomisi	2
1.1.2. Mikrobiyotanın Oluşumu ve Yaşam Dönemlerine Göre Değişimi	4
1.1.3. Bağırsak Mikrobiyotasıyla İlişkilendirilen Çevresel Etmenler	5
1.1.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve İlişkili Sağlık Sorunları	8
1.1.4.1. Yenidoğan Hastalıklarında Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü	8
1.1.4.2. Yaşamın Diğer Dönemlerinde Hastalıklar ve Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü	11
1.2. Gıda Katkı Maddelerinin Tanımı ve Sınıflandırılması	18
1.2.1. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanımına İlişkin Yasal Mevzuat	24
1.2.2. Gıda Katkı Maddeleri ile İlişkili Rapor Edilen Sağlık Sorunları	25
1.2.3. Tartrazin	27
1.2.3.1. Vücutta Tartrazin Metabolizması	31
1.2.3.2. Tartrazinle İlişkilendirilen Sağlık Sorunları	31
1.2.3.3. Tartrazin ve Bağırsak Mikrobiyotası Arasındaki İlişki	33
2. GEREÇ VE YÖNTEM	35
2.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	35
2.2. Araştırmanın Genel Planı	36
2.3. Verilerin Toplanması ve Değerlendirilmesi	37
2.3.1. Sıçanların Büyütülmesi, Diyet Uygulanması, Dışkı Örneklerinin Toplanması, Hayvanların Sakrifiye Edilmesi ve Doku Örneklerinin Alınması	38
2.3.2. Dışkı Örneklerinden DNA İzolasyonu	40
2.3.3. Yeni Nesil Dizileme Tekniği ile Dışkı Örneklerindeki Bakteri Kompozisyonunun Belirlenmesi	41
2.4. Dizileme Sonuçlarının Biyoinformatik Analizi	43
3. BULGULAR	44
3.1. Sıçanlarda Deney Süresi (12 Hafta) Boyunca Ağırlık Değişiminin Değerlendirilmesi	44
3.2. Sıçanlarda Deney Süresi Boyunca Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi	46
3.2.1. Erkek Sıçanlarda Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi	48
3.2.2. Dişi Sıçanlarda Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi	71
3.3.1. Erkek Sıçanlarda Tartrazinin Dışkı Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi	94
3.3.2. Dişi Sıçanlarda Tartrazinin Dışkı Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi	98
3.4. Erkek ve Dişi Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Bakteri Çeşitliliğinde Meydana Gelen Değişimin Değerlendirilmesi	102

4. TARTIŞMA	104
4.1. Tartrazinin Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi	104
4.2. Tartrazinin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkisi	105
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR	118
EKLER	136
Ek 1	136
Ek 2	138



ÖNSÖZ

Bağırsak mikrobiyotası, sindirim sisteminde yer alan çok sayıdaki mikroorganizmanın oluşturduğu karmaşık bir ekosistemdir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, yaş, cinsiyet, ırk ve genetik gibi bireye özgü etmenlerin yanı sıra, beslenme düzeni, fiziksel aktivite ve sigara kullanımı gibi çevresel etmenlerin de bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu üzerinde etkili olabileceğine yönelik kanıt sunmaktadır. Çevresel etmenler arasında özellikle beslenme, bağırsak ekosistemini spesifik tür ya da türler lehine değiştirerek, mikroorganizmaların sindirim sistemindeki fonksiyonlarını modüle etme potansiyeline sahiptir. Gelişmiş toplumlarda, diyet örüntüsü içerisinde tüketilen pek çok besin maddesi, gıda katkı maddelerini bünyesinde barındırmaktadır. Gıda katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotası ve dolaylı olarak konak sağlığı üzerine potansiyel etkileri ise güncel araştırma konuları arasında yer almakla birlikte özellikle son yıllarda çok sayıda araştırmacı tarafından irdelenmektedir.

Tartrazin, gıda katkı maddeleri arasında yaygın olarak kullanılan bir renklendirici olarak bilinmektedir. Toksikoloji çalışmaları, günlük kabul edilebilir limitler doğrultusunda tartrazin kullanımının, sağlık üzerinde olumsuz bir etki yaratmayacağına yönelik kanıt sunmasına karşın, tartrazin ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bu tez araştırması, peripubertal dönemin başından itibaren uzun dönem düşük doz tartrazin maruziyetinin, sıçanların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Elde edilen veriler, tartrazinin, mikrobiyota üzerinde cinsiyete bağımlı birtakım etkileri olabileceğine dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışması ve diğer tüm çalışmalarımdeki sonsuz katkılarından ötürü danışmanım Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN'a; bu araştırmanın ortaya çıkmasına imkân tanıyan Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP, Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN ve Dr. Öğr. Üyesi Murat KAVRUK'a; Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'ndaki yardımlarından ötürü Veteriner Hekim Atilla İŞGÖREN, Biyolog Nazlı AYDIN, Çelebi DEMİRCAN ve Nizamettin ÖZDEMİR'e; her daim işbirliği içerisinde çalışma imkânı bulabildiğim sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Tuğçe Nur BALCI ve Araş. Gör. Emre DUMAN'a; laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Farzaneh BONYADI ve teknikerimiz Sezai GÖLCÜK'e; manevi destekleriyle hep yanımda olan sevgili eşim Sina ÇETİNER ve canım annem Seher ÇETİN'e teşekkürlerimi sunuyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	Acceptable Daily Intake / Kabul Edilebilir Günlük Alım Limiti
BHA	Bütile Hidroksianisol
BHT	Bütile Hidroksitoluen
BKİ	Beden Kütle İndeksi
CCFACC	Codex Committee on Food Additives and Contaminants / Gıda Katkı Maddeleri ve Kontaminantları Kodeks Komitesi
CRP	C-Reaktif Protein
DEHB	Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
EC	European Commission / Avrupa Parlamentosu ve Konseyi
EFSA	European Food Safety Authority / Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations / Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
FDA	U.S. Food and Drug Administration / Amerikan Besin ve İlaç İdaresi
g	Gram
GLP-1	Glukagon Benzeri Peptid 1
GPR	G protein Reseptörü
GSFA	Codex General Standard for Food Additives / Gıda Katkı Maddeleri İçin Genel Standartlar
HPA	Hipotalamus - Hipofiz - Adrenal
IBD	İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
IBS	İrritabl Bağırsak Sendromu
INS	International Number System / Uluslararası Numaralandırma Sistemi
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives / Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzmanlar Komitesi
kg	Kilogram
L	Litre
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
NaCl	Sodyum Klorür
NAFLD	Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NASH	Non-Alkolik Yağlı Steohepatit
ng	Nanogram
OTU	Operasyonel Taksonomik Birim
PCoA	Temel Bileşen Ordinat Analizi

pM	Pikomolar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed / Avrupa Komisyonu Gıda ve Yem Hızlı Uyarı Sistemi
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
rs-fNIRS	Fonksiyonel Yakın Kızılötesi Spektroskopi
SCF	Scientific Committee on Food / Avrupa Birliği Bilimsel Gıda Komitesi
SCFA	Short-Chain Fatty Acids / Kısa Zincirli Yağ Asitleri
Th1	T hücre 1
Th17	T hücre 17
Th2	T hücre 2
TLR4	Toll Benzeri Reseptör 4
T-reg	Regülatör T hücre
WHO	World Health Organisation / Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonuna ilişkin örnek taksonomi	3
Şekil 1.2. Yaşa göre bağırsak mikrobiyotasındaki baskın şubelerin görsel sunumu	5
Şekil 2.1. Araştırma planına ilişkin akış şeması	37
Şekil 2.2. Kafeslere özel hazırlanan atık su bidonları	38
Şekil 2.3. Dışkı örneklerinin toplaması	40
Şekil 2.4. PCR protokolünün görsel şeması	42
Şekil 3.1. Dişi ve erkek sıçanların deney başlangıcından sonuna kadar haftalara göre (A) vücut ağırlığı değişimleri, (B) vücut ağırlığı artışları, (C) vücut ağırlığı artışı oranları.	45
Şekil 3.2. Erkek ve dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en sık görülen bakterilerin taksonomik sınıflandırması	47
Şekil 3.3. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	50
Şekil 3.4. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	54
Şekil 3.5. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 10 takım. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	58
Şekil 3.6. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 15 familya. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	62
Şekil 3.7. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 15 cins. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	66
Şekil 3.8. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 20 tür. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	70
Şekil 3.9. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	73
Şekil 3.10. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	77

Şekil 3.11. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 10 takım. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	81
Şekil 3.12. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 15 familya. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	85
Şekil 3.13. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 15 cins. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	89
Şekil 3.14. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 20 tür. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).	93



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Bağırsak mikrobiyomuyla ilişkilendirilen faktörler ve bu faktörlerin etkilerine ilişkin verilerin özetlenmesi	7
Çizelge 1.2. İşlevlerine göre gıda katkı maddelerinin sınıflandırılması	21
Çizelge 1.3. Bazı gıda katkı maddeleri ve bu katkı maddelerine ilişkin rapor edilen sağlık sorunları	26
Çizelge 1.4. Yiyecek ve içeceklerde maksimum izin verilen ve rapor edilen tartrazin miktarları	29
Çizelge 2.1. Hayvanların haftalık vücut ağırlığı, su tüketimi ve tartrazin alımlarına ilişkin veriler	39
Çizelge 3.1. Erkek sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler	96
Çizelge 3.2. Erkek sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarında deney başı ve sonundaki <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> oranları	98
Çizelge 3.3. Dişi sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler	100
Çizelge 3.4. Dişi sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarında deney başı ve sonundaki <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> oranları	102
Çizelge 3.5. Erkek ve Dişi Sıçanların Dışkı Numunelerindeki Bakteri Türleri Temel Alınarak Hesaplanan Shannon Çeşitlilik İndeksi Değerleri	103

1. GİRİŞ

1.1. Mikrobiyotanın Tanımı ve Kapsamı

Mikrobiyota, "belirli bir ortamda bulunan mikroorganizmalar (bakteriler, arkealar, ökaryotlar ve virüsler) topluluğu" olarak tanımlanır. Bitkiler dahil tüm çok hücreli organizmalarda mikrobiyotanın varlığından söz etmek mümkündür (Malard vd., 2021). Mikrobiyota ile sık sık birbirlerinin yerine kullanılan mikrobiyom terimi ise çevresel bir niş içinde bulunan mikroorganizmaların tamamını -yani mikrobiyotayı- ve bu mikroorganizmaların yapı taşları (nükleik asitler, proteinler, lipitler, polisakkaritler) ile mikroorganizmalarca üretilen tüm metabolitleri (sinyal molekülleri, toksinler, organik ve inorganik moleküller) tanımlayan kapsayıcı bir kavramdır (Berg vd., 2020). Mikrobiyom, hücre büyümesine, metabolik faaliyetlere, bariyer fonksiyona, immün stimülasyona ve hemen hemen vücudun tüm organları arasında sinyalizasyona katkıda bulunur (Malard vd., 2021).

Metagenomik analizler ile mikrobiyom hakkındaki güncel bilgiler oldukça hızlı bir şekilde ilerlemektedir. Bu çalışmalardan elde edilen verilere göre her bireyde Homo sapiens türüne ait 23.000 gen ve yaklaşık 600.000 mikrobiyal gen bulunduğu bildirilmiştir. Buradan hareketle, insana ait bileşen, konak genomu ve ilişkili mikrobiyal genom toplamının (hologenomun) %4'ünden daha azına denk gelmektedir (Malard vd., 2021). İnsan vücudu -yani konakçı- ve vücut ekosisteminde var olan sayıca baskın bu mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler, deri seviyesinde, ürogenital sistemde, ağız, farinks ve solunum sisteminde ve mikroorganizmaların açık ara en yüksek yoğunluk ve çeşitliliğini içeren sindirim sisteminde gerçekleşir. Bağırsak mikrobiyotası, sindirilen besinler ile bağırsak epiteli arasında bir arayüz görevi görür. Bununla birlikte, immün hücreler ve nöral hücreler ile yakın temas halindedir (Malard vd., 2021). Bağırsak mikrobiyomunun, besinlerden enerji eldesini artırabildiği, iştahla ilişkili sinyalleri regüle edebildiği, vücut için bazı vitaminlerin üretiminde rol oynayabildiği ve ksenobiyotikler de dahil olmak üzere pek çok organik ve inorganik materyalin metabolize edilmesinde aktif görev alabildiği bildirilmiştir (Altveş vd., 2020). Bağırsak mikrobiyotası, tüm bu işlevlerinden ötürü, sağlık ve hastalıkta önemli rol oynayan bir organ olarak tanımlanmaktadır (Malard vd., 2021).

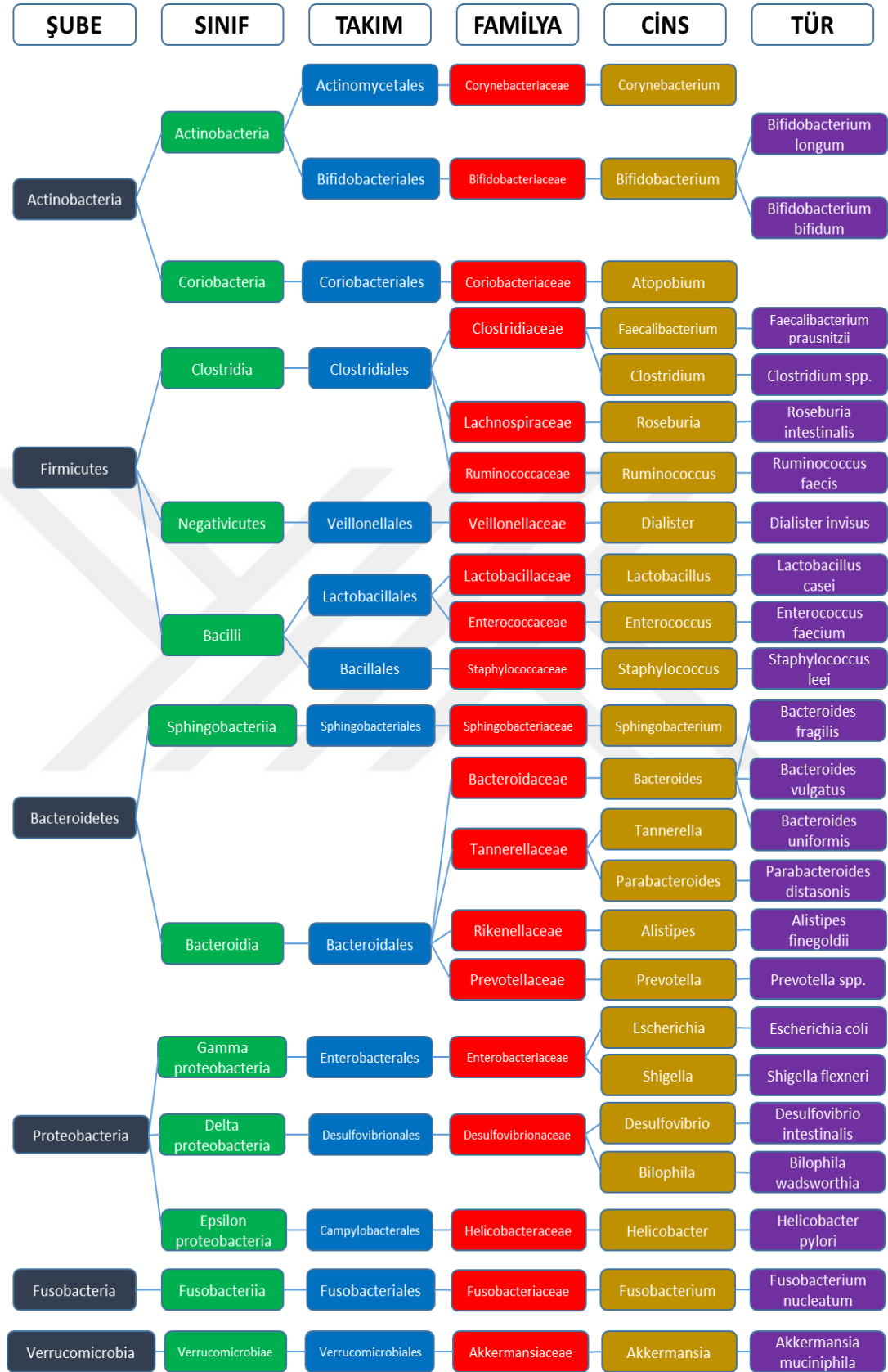
Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişiklikler, diyabet, obezite, astım ve alerjiler de dahil olmak üzere pek çok metabolik ve otoimmün rahatsızlıkla

ilişkilendirilebilmektedir. Bu sebeple, mikrobiyom üzerine yapılan incelemeler yalnızca temel biyolojinin ilgi alanı olmaktan ziyade pek çok disiplini ilgilendirmektedir. İnsan bağırsak mikrobiyomundaki çeşitliliğin gelişmiş ülkelerdeki popülasyonlarda, avcı-toplayıcılar ve kırsal topluluklarda yaşayanlara kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir. Mikrobiyomdaki bu farklılık ise, gelişmiş toplumlardaki artmış işlenmiş besin tüketimi, hijyen ve antibiyotik kullanımına atfedilmektedir (Goldman ve Green, 2021).

Mikrobiyomun kapsamlı bir şekilde tanımlanması ve konakçı üzerindeki etkilerinin anlaşılır hale gelmesi ile birlikte, klinik ve toplumsal alanda bir değerlendirme aracı olarak kullanılabileceği de öngörülmektedir. Mikrobiyomun ve konakçının fizyolojik durumu (örn. hastalık, organ işlevi, vb.) arasındaki ilişki net bir şekilde tanımlandığında, mikrobiyom, vücuttaki işlev bozukluğunu hızlı bir şekilde belirlemede sağlam ve düşük maliyetli bir teşhis aracı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte mikrobiyom, konakçıların kökenleri ve geçmişi hakkında bilgi edinmede potansiyel bir sınıflandırma aracı olarak epidemiyolojik çalışmalara katkı sağlayabilir (Cullen vd., 2020).

1.1.1. Bağırsak Mikrobiyotasında Yaygın Bulunan Canlıların Taksonomisi

Bağırsak mikrobiyotası, bakteri, mantar ve virüsler dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizma türlerinden oluşur. Taksonomik olarak bakteriler, şubelere/filumlara, sınıflara, takımlara, familyalara, cinslere ve türlere göre sınıflandırılır. Baskın bağırsak mikrobiyal şubeleri *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia*'dır. Bu şubeler arasında *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*, bağırsak mikrobiyotasının %90'ını temsil eder. *Firmicutes* şubesi, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* ve *Ruminococcus* gibi 200'den fazla farklı cinsten oluşur. *Clostridium* cinsi, *Firmicutes* şubesinin %95'ini temsil eder. *Bacteroidetes* şubesi, *Bacteroides* ve *Prevotella* gibi baskın cinslerden oluşur. *Actinobacteria* şubesi orantılı olarak daha az bulunur ve esas olarak *Bifidobacterium* cinsi tarafından temsil edilir (Rinninella vd., 2019). Şekil 1.1'de bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakterilere ilişkin şube, sınıf, takım, familya, cins ve tür seviyesinde örnekler verilmiştir.

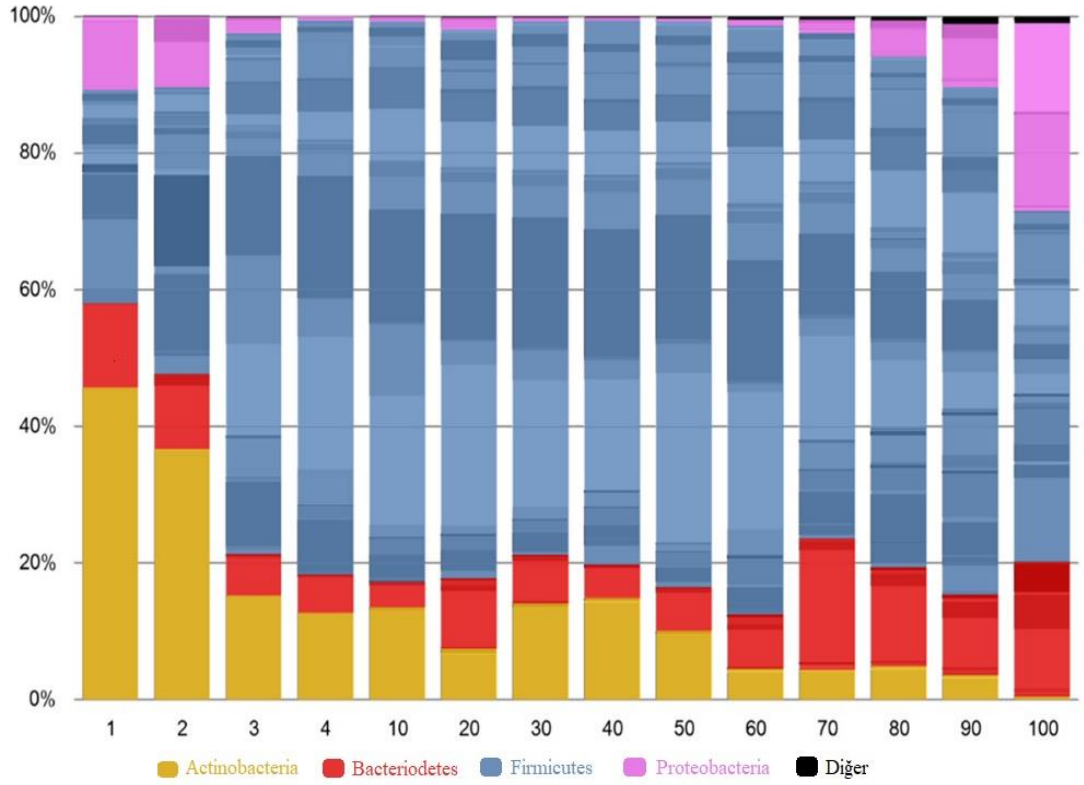


Şekil 1.1. Bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonuna ilişkin örnek taksonomi (Rinninella vd., 2019)

1.1.2. Mikrobiyotanın Oluşumu ve Yaşam Dönemlerine Göre Değişimi

Son birkaç yıla kadar plasentanın, fetüsü, hayatı tehdit edebilecek her türlü mikroorganizmadan koruduğu hipotezine dayanarak fetal gastrointestinal ortamın steril olduğu düşünülmekteydi. Bununla birlikte, sağlıklı gebeler üzerinde yapılan güncel çalışmalar, hem placentada dokularında, hem de amniyotik sıvıda, kommensal mikrobiyotanın varlığına dair kanıtlar sunmaktadır. İki bin yirmi tarihinde yapılan bir çalışmadan elde edilen verilere göre, placentada *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria*'nın, göbek kordonu kanında ise *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Staphylococcus*'un varlığından söz etmek mümkündür (Altveş vd., 2020). Vajinal doğumdan sonra 15 sağlıklı term bebekten alınan mekonyumun mikrobiyota bileşiminin değerlendirildiği bir çalışmada, bebeklerin yaklaşık %66'sının mekonyumlarında az miktarda da olsa canlı bakteri taşıdığı gösterilmiştir (Hansen vd., 2015). Verilere göre yenidoğanların mekonyumlarındaki en yaygın bakteri cinsleri, *Bifidobacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* ve *Bacteroides-Prevotella*'dır. Sağlıklı yenidoğanların mekonyumlarında bakteriyel DNA varlığını kanıtlayan diğer çalışmalar da (Hu vd., 2013; Nagpal vd., 2016), bağırsak mikrobiyal kolonizasyonunun doğumdan önce başladığı fikrini desteklemektedir. Tüm bu güncel veriler ışığında, mikrobiyotanın doğumdan hemen sonra insan vücudunu kolonize ettiği düşüncesi artık geçerliliğini yitirmiştir. Fizyolojik mikrobiyotanın, kadın ve erkek üreme organlarının yanı sıra placentada ve göbek kordonunda tespit edilmesi, bakterilerin insan üreme sisteminde kendi biyofilmlerini oluşturarak gamet, embriyo ve/veya fetüsün maternal dokularla ilişkisinde, etkisi henüz net olarak tanımlanmamış bir görevi olabileceğini düşündürmektedir (Milani vd., 2017).

Doğum sonrası dönemde bağırsak mikrobiyotasının gelişimi üzerine yapılan çalışmalar ise, mikrobiyotanın yaşamın farklı dönemlerinde değişkenlik gösterebildiğine yönelik kanıtlar sunmaktadır. Yaşları 0-104 yıl arasında değişen 367 sağlıklı birey üzerinde yapılan bir kesitsel çalışmadan elde edilen veriler ışığında, yaşa göre bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun değişimi Şekil 1.2'de özetlenmiştir. Buna göre, *Actinobacteria*'nın, süttten kesilmeyle birlikte önemli ölçüde azaldığı ve yaşla birlikte azalmaya devam ettiği görülmektedir. Bununla birlikte, *Firmicutes*, süttten kesilmeyle birlikte mikrobiyotadaki en baskın şube haline gelmektedir. Üç yaşından yaşlılık döneminin başlarına kadar mikrobiyota kompozisyonu görece sabit kalmaktadır. Yetmiş yaşından sonra ise *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* şubelerinde artış meydana gelirken, *Actinobacteria* ve *Firmicutes* şubelerinin nispi çokluğu azalmaktadır (Odamaki vd., 2016).



Şekil 1.2. Yaşa göre bağırsak mikrobiyotasındaki baskın şubelerin görsel sunumu (Odamaki vd., 2016)

1.1.3. Bağırsak Mikrobiyotasıyla İlişkilendirilen Çevresel Etmenler

Bağırsak mikrobiyotası, yaşamın erken evrelerinde şekillenmeye başlar. Buna karşın, konak yaşantısıyla birlikte gelişimini ve çeşitliliğini etkileyen çeşitli faktörler tarafından modüle edilebilir. Doğum şekli, erken dönemde bebeğin bağırsak mikrobiyotasındaki baskın türlerin kolonizasyonu açısından belirleyicidir. Vajinal yolla doğan bebeklerin bağırsak mikrobiyotasında, annenin vajinal mikrobiyotasında yaygın bulunan *Lactobacillus* ve *Prevotella* baskın iken, sezaryenle doğan bebeklerin bağırsak mikrobiyotasında, annenin derisinde yaygın bulunan *Staphylococcus*, *Corynebacterium* ve *Propionibacterium* baskındır (Dominguez-Bello vd., 2010). Bu birincil mikrobiyota, zamanla daha çeşitli ve nispeten daha kararlı bir hale evrilerek yetişkin bağırsak mikrobiyotasına benzer hale gelir (Hasan ve Yang, 2019).

Doğumdan sonra bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesinde bir diğer önemli faktör bebek beslenmesidir. Anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyotasındaki baskın

türler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'dur. Formula ile beslenen bebeklerde ise *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Bacteroides*, *Clostridia* ve *Streptococcus* yaygınlık göstermektedir (Hasan ve Yang, 2019). Anne sütü, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* tarafından kolayca parçalanabilen oligosakkaritleri içerir ve bu iki türün selektif olarak çoğalmasına sebebiyet verir. Oligosakkaritlerin parçalanmasıyla kısa zinciri yağ asitlerinde (short-chain fatty acids - SCFA) bir artış meydana gelir ve bu da bağışıklık sisteminde immünoglobulin G ekspresyonunu uyarır (Ouwehand vd., 2002). Bu sayede, bebeklerin büyümesi sırasında ilk bağışıklıkta önemli bir rol oynayabilir. Beslenme şekli ve dolaylı olarak mikrobiyotanın bileşimi, hem bebeklerin zayıf bağışıklığa bağlı hastalıklardan korunması, hem de çocuk ve adölesan dönemdeki sağlık sorunlarına ilişkin risklerin kontrol altına alınması açısından önem arz etmektedir.

Bebeklik döneminden sonra da diyet, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunun ve çeşitliliğinin tanımlanmasında anahtar bir faktör olmaya devam eder. Farklı diyet türleri, selektif olarak bazı bakterilerin çoğalması ve buna bağlı olarak bazı sağlık risklerinin ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilebilmektedir. Örneğin yüksek yağlı ve basit karbonhidratlardan zengin bir diyet, *Escherichia coli*'de artışa sebep olarak, epitel hücre bütünlüğünün bozulmasına ve bunu takiben lipopolisakkaritlerin dolaşıma katılmasının bir sonucu olarak metabolik endotoksemiye yol açabilir (Bajinka vd., 2020). Proteinden, özellikle de kırmızı et tüketiminden zengin bir diyet ise sülfat indirgeyici bakteri popülasyonu ve bu bakterilerin metabolitleri olan sülfid, indol, amonyak, N-nitröz ve nitrik oksit gibi potansiyel toksik bileşiklerde artışa sebebiyet vererek mukus oluşumunun bozulmasına ve ülseratif kolit riskinin tetiklenmesine neden olabilir (Bajinka vd., 2020). Yaygın kırmızı et tüketimi, yüksek yağ ve şeker içeriğiyle bilinen Batı tarzı diyetler, bu anlamda disbiyozis ve ilişkili sağlık riskleriyle sık sık bir arada anılmaktadır. Bununla birlikte, kompleks karbonhidratlardan zengin vejetaryen diyetler ise, *Ruminococcus*, *Roseburia* ve *Eubacterium* gibi sindirime dirençli karbonhidratları metabolize edebilen türlerin baskınlığıyla karakterize, yüksek çeşitliliğe sahip sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası ile ilişkilendirilmektedir (Walker vd., 2011). Makro besin ögesi kompozisyonunun yanı sıra, diyetle alınan ve sindirim sistemine ulaşan her bir bileşen, vücutta nasıl metabolize edildiğine bağlı olarak, bağırsak mikrobiyomunda değişime sebep olabilir. Mikrobiyoma etkisi tanımlanan faktörler, Çizelge 1.1'de özetlenmiştir (Bajinka vd., 2020).

Çizelge 1.1. Bağırsak mikrobiyomuyla ilişkilendirilen faktörler ve bu faktörlerin etkilerine ilişkin verilerin özetlenmesi (Bajinka vd., 2020)

Faktör	Mikrobiyoma etkisi	Bağırsakta/konak sağlığında meydana gelen değişim
Diyet		
Yüksek yağlı/yüksek şekerli diyet	<i>E.coli</i> 'de artış	Bağırsak geçirgenliğinde artış, epitel hücreler arasında bütünlüğü sağlayan zo-1 ekspresyonunda azalma, metabolik endotoksemi riskinde artış
Yüksek proteinli diyet	Sülfid, indol, amonyak, N-nitröz ve nitrik oksit gibi potansiyel toksik bileşiklerde artış	Obezite ve ülseratif kolitle ilişkili mikrobiyota şekillenmesi
Besin tüketiminin artışı	<i>Firmicutes</i> 'te artış	Disbiyozise bağlı olarak obeziteyle ilişkili metabolik hastalık riskinde artış
D vitamini eksikliği	Disbiyozis	İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ve kolit riskinde artış
Kırmızı et tüketiminde artış	Bağırsakta sülfat indirgeyici bakteri miktarında artış (ör: <i>Desulfovibrio</i>)	Mukus tabakasının oluşumunda azalma, DNA metilasyonunun bozulması, reaktif oksijen türevlerinde artış
Doymuş yağ asitlerinden zengin, doymamış yağ asitlerinden fakir diyet (fare modeli)	<i>Bilophila wadsworthia</i> 'da artış	T hücre 1 (Th1) kaynaklı inflamatuvar hücre reaksiyonunda artış, kolit riski ve LDL kolesterol seviyelerinde artış
Posa tüketiminde artış	SCFA üretiminden sorumlu bakteriler ve SCFA'da artış	Besinlerden enerji eldesinde artış
Gluten	Patojen bakteri popülasyonunda artış	Çölyak, gluten intoleransı, konstipasyon ve diyare riskinde artış
Aralıklı açlık	<i>Bacteroidetes</i> ve <i>Verrucomicrobia</i> 'da artış, <i>Firmicutes</i> 'te azalma	Müsin degrade etme kapasitesinde artış, bağışıklık yanıtının regülasyonunda olumlu etki
Açlık/kıtlık	<i>Proteobacteria</i> 'da artış	Mukozal tabakada inflamasyon riskinin artışı
İlaçlar		
Antibiyotik	<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> ve <i>Clostridium difficile</i> 'de artış	İntestinal inflamasyon, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve dirençli ishal riskinde artış
Metformin	<i>E.coli</i> 'de artış	Disbiyozis
Aspirin ve türevleri	<i>Bacteroidaceae</i> ve <i>Enterobacteriaceae</i> 'de artış	Mide ülseri riskinde artış
Diğer faktörler		
Oksidatif stres	<i>Enterobacteriaceae</i> 'de artış	Lipopolisakkarit sekresyonunda meydana gelen artışa bağlı agresif inflamatuvar yanıt
Doğum şekli (sezaryen)	<i>Bifidobacteria spp.</i> ve <i>Lactobacillus spp.</i> de azalma	Astım ve alerji riskinde artış
Doğum sonrası beslenme (formula)	Bağırsak mikrobiyotasında köklü değişiklikler	Çocukluk çağı obezitesi riskinde artış

1.1.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve İlişkili Sağlık Sorunları

Bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu ve çeşitliliği, yaşamın farklı dönemlerinde bazı sağlık sorunlarının ortaya çıkması ile ilişkilendirilebilmektedir.

1.1.4.1. Yenidoğan Hastalıklarında Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü

Yenidoğan hastalıkları ve mikrobiyota arasındaki ilişkiye odaklanan çok sayıda çalışma, belirli türlerin mikrobiyal bileşimi, çeşitliliği ve baskınlığı ile belirli cinsler tarafından regüle edilen metabolik yolların, bazı hastalıkların başlangıcı ve/veya semptomları ile güçlü bir şekilde ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalar arasında gastrointestinal sistem rahatsızlıkları ve mikrobiyal kompozisyon arasındaki ilişkiye odaklananların sayısı, diğerlerinden fazladır (Mosca vd., 2016; Yao vd., 2021). Çalışmaların bu alanda özellikle yoğunlaşması, farklı bakteri, virüs ve mantar türleri ile bu mikroorganizmaların metabolitlerinin, gastrointestinal mukus üretimi (Paone ve Cani, 2020), bağırsak bariyer bütünlüğü (Chakaroun vd., 2020) ve bağırsak hücrelerinin immün yanıtının (Yoo vd., 2020) regülasyonunu sağlayarak gastrointestinal hastalıkların semptomlarını tetiklemede veya önlemede etkin görev almasına atfedilebilir. Aşağıda bu tarz hastalıkların mikrobiyota ile ilişkileri özetlenmiştir.

Kolik: Yenidoğanlarda en sık görülen sağlık sorunlarından biri koliktir. Kolik nedenleri çeşitlidir, ancak kolikte ağlama nöbetleri genellikle sindirim sistemi ile ilişkilendirilmektedir. Araştırma sonuçları, kolik olan bebeklerin bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliğin, sağlıklı yaşıtlarına göre anlamlı derecede düşük olduğunu ve mikrobiyal çeşitlilikteki bu göreceli farkın yaşamın ilk 100 günü boyunca devam edebildiğini göstermektedir (De Weerth vd., 2013). Kolikli bebeklerin mikrobiyotasında, *Actinobacteria* oransal olarak daha seyrek, *Proteobacteria* ise daha yaygın bulunabilmektedir (Rhoads vd., 2018). Özellikle, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Vibrio*, *Yersinia* ve *Pseudomonas* cinslerinin kolik ile pozitif, *Butyrivibrio crossotus*, *Eubacterium rectale* ve *Eubacterium hallii* türlerinin ise kolik ile negatif ilişkili olduğu rapor edilmiştir (De Weerth vd., 2013).

Çölyak: Yenidoğanlarda karşılaşılabilen bir diğer gastrointestinal problem, bağırsıklığın hiper-reaksiyonu ve/veya bağırsak katmanlarının iltihaplanmasıyla karakterize çölyak hastalığıdır. Bu hastalıkta, diyetle alınan gluten ürünleri tarafından tetiklenen, kronik bir ince bağırsak iltihabı söz konusudur. Hastalığın başlangıcı karmaşıktır ve semptomların

ortaya çıkmasında genetik ve çevresel faktörler birlikte etkili olabilmektedir (Parzanese vd., 2017). Genetik olarak çölyak hastalığına yatkın bebeklerde, *Bacteroides* ve *Enterococcus* cinslerinin nispi çokluğunun, yaşamın ilerleyen dönemlerinde çölyak hastalığı geliştirme riski ile pozitif ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, genetik yatkınlığı yüksek bebeklerin bağırsaklarında, 4-6 aylıkken, *Veillonella*, *Parabacteroides* ve *Clostridium perfringens*'in oransal olarak daha az bulunduğu bildirilmiştir (Leonard vd., 2020). Bağırsakta var olan mikroorganizmaların yanı sıra, mikrobiyal metabolitler ve çölyak hastalığı gelişimi arasında da birtakım bağıntılar rapor edilmiştir. Buna göre, bütaniok asit ve dihidroksiaseton, çölyak yatkınlığıyla ilişkili olabilmektedir; genetik yatkınlığı yüksek bebeklerde bütaniok asit, daha yaygın, dihidroksiaseton ise daha seyrek (Leonard vd., 2020).

Süt proteini alerjisi: Süt proteini alerjisi, bağırsak aracılı immün sistem aktivasyonu ile gelişen bir diğer yenidoğan hastalığıdır. IgE aracılı olmayan inek sütü proteini alerjisi olan bebekler ve sağlıklı yaşıtlarının bağırsaklarında, Shannon ve beta çeşitlilik indeksleri arasında önemli bir fark saptanmamış olmasına karşın, *Eggerthellaceae*, *Lachnospiraceae* ve *Peptostreptococcaceae* familyaları süt proteini alerjisi olan bebeklerde daha yaygın bulunabilmektedir. Bununla birlikte *Bifidobacterium* ve *Rothia* cinslerinin nispi miktarları da süt proteini alerjisi olan bebekler ve sağlıklı yaşıtları arasında değişiklik gösterebilmektedir; *Bifidobacterium*, alerjisi olan bebeklerde oransal olarak daha seyrek, *Rothia* ise daha yaygındır (Aparicio vd., 2020).

Alerji: Bağırsak mikrobiyomunun, özellikle yenidoğanlarda, lokal immün yanıtın yanı sıra, tüm vücutta bağışıklık sistemini modüle etmede önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (Pascal vd., 2018). Bağırsak mikroorganizmaları ile alerji ve astım gibi bağışıklık sistemiyle ilintili hastalıklar arasındaki bağıntıyı araştıran çok sayıda yenidoğan çalışması, bazı türlerin ve/veya metabolitlerinin bolluğunun ve/veya yokluğunun bağışıklık sistemi hastalıklarının gelişmesinden sorumlu olabileceğini ortaya koymuştur (Abrahamsson vd., 2012, 2014; Arrieta vd., 2015; Kalliomäki vd., 2001; Shen vd., 2019; Sjögren vd., 2009) . Buna göre, *Actinobacteria*, *Cyanobacteria* ve *Saccharibacteria*'nın oransal olarak daha az olması, yenidoğanlarda alerji gelişimi ile ilişkilendirilebilmektedir (Shen vd., 2019). Ek olarak, bir yaşındaki alerjik bebeklerin mikrobiyotasında *Erysipelatoclostridium*'un nispeten daha az, *Akkermansia*'nın ise nispeten daha çok bulunması, bu iki cins ile alerji arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir (Shen vd., 2019).

Atopik dermatit: Atopik dermatit (atopik egzama), özellikle yaşamın ilk yılından sonra gelişen ve çocuklarda sık görülen alerjik hastalıklar arasında yer alır. Klinik çalışmalar, atopik dermatitli bebeklerin bağırsak mikrobiyotasında, hastalıkla ilişkili semptomlar ortaya çıkmadan önce bile, sağlıklı yaşıtlarına kıyasla önemli farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur (Abrahamsson vd., 2012; Kalliomäki vd., 2001). Buna göre, atopik egzamalı bebeklerden bir aylıkken alınan dışkı örneklerinde, toplam mikrobiyal çeşitliliğin ve *Bacteroidetes* şubesine ait türlerin nispeten daha az olduğu bildirilmiştir (Abrahamsson vd., 2012). Aynı örneklemden 12 aylıkken alınan dışkı örneklerinde, atopik dermatitli bebeklerde, sağlıklı yaşıtlarına göre *Proteobacteria* daha düşükken, *Firmicutes* daha yüksek bulunmuştur. Tür seviyesinde incelendiğinde, atopik infantların bağırsak mikrobiyotasında *Enterococcus* türleri, *Peptostreptococcaceae Incertae Sedis*, *Eggerthella* türleri ve *Coprobacillus* türleri daha yaygın, 12. ayda ise *Sutterella* türleri ve *Fusobacterium* türleri daha baskındır (Abrahamsson vd., 2012). Ek olarak, yüksek atopi riski taşıyan bebeklerde, ilk bir ay içerisinde *Bifidobacteria/Clostridia* oranının da düşük olabileceği bildirilmiştir (Kalliomäki vd., 2001).

Astım: Sıklıkla çocukluk çağında başlayan bir başka alerjik rahatsızlık olan astım, spesifik alerjenler tarafından indüklenen bağışıklık sisteminin hiper aktivitesini içeren karmaşık bir patofizyolojiye sahiptir (Fрати vd., 2019). Bağırsak mikrobiyotası ve astım arasındaki ilişki, bağırsak mikrobiyomunun, astım semptomlarının ortaya çıkmasında etkili olduğu bilinen yardımcı T hücre 2 (Th2) yanıtını regüle edebilme yetisine atfedilmektedir (Fрати vd., 2019). Yapılan bir çalışmada, bir haftalık ve bir aylık bebeklerden alınan dışkı örneklerindeki düşük mikrobiyal çeşitlilik ile yedi yaşında astım tanısı alma riski arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir (Abrahamsson vd., 2014). Atopik ve hırıltılı nefes alma şikayeti olan çocukların üç aylık dışkı örnekleri incelendiğinde ise *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Rothia* ve *Veillonella*'nın sağlıklı kontrollere kıyasla nispeten daha seyrek olduğu ifade edilmiştir (Arrieta vd., 2015). Bahsi geçen bu bakteri cinsleriyle yapılan mikrobiyal zenginleştirmenin, akciğer iltihabı oluşturulan fare modellerinde, iltihabi durumu geri çevirmeye yardımcı olabileceği ayrıca doğrulanmıştır (Arrieta vd., 2015).

Beyin gelişimi ve davranış oluşumu: Yenidoğanlarda bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkilendirilen bir diğer alan da beyin gelişimi ve davranış oluşum sürecidir. Beyin ve bağırsak arasındaki iletişimin, vagus siniri ve bağırsak mikroorganizmalarınca üretilen nöroaktif kimyasallar aracılığıyla gerçekleştiği (Johnson ve Foster, 2018) ve mikrobiyotadaki bazı türlerin nispi çokluğunun, konak beyin gelişimi ve davranışları ile bağıntılı olabileceği düşünülmektedir (Kelsey vd., 2021; Laue vd., 2020). Yapılan bir çalışmada, bağırsak

mikrobiyotasındaki çeşitliliğin, hem sol-paryetal nöral ağ hem de homolog-interhemisferik nöral ağ bağlantısı ile pozitif olarak ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Kelsey vd., 2021). Bebekler, fonksiyonel yakın kızılötesi spektroskopi (rs-fNIRS) prosedürüne göre yüksek bağıntılı homolog-interhemisferik nöral ağ grubu ve düşük bağıntılı homolog-interhemisferik nöral ağ grubu olarak ikiye ayrıldığında, ilk grupta yüksek miktarda *E.coli*, ikinci grup ise yüksek miktarda *Bifidobacterium dentium* varlığı tespit edilmiştir (Kelsey vd., 2021). Çeşitli davranış problemleriyle ilişkilendirilen otizm spektrum bozukluğu ve mikrobiyota ilişkisi incelendiğinde ise, üç yaşındaki çocuklarda otizmle ilgili sosyal davranışların, yaşa göre sırası ile altıncı ayda *Flavonifactor plautii*, bir yaşında *Lachnospiraceae*, iki yaşında *Coproccoccus* ve çoğu *Bifidobacterium* türü ve üç yaşında *Butyricococcus pullicaecorum* ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (Laue vd., 2020).

Diğer hastalıklar: Güncel literatürde, mikrobiyota ve diğer yenidoğan hastalıkları arasındaki ilişkiye dikkat çeken, ancak henüz nedensel bir patofizyolojinin kanıtlanmadığı bazı kesitsel araştırmalar da mevcuttur (Skondra vd., 2020; Wang vd., 2021). Konjenital kalp rahatsızlığı olan ve olmayan bebeklerin annelerinin incelendiği bir çalışmada, mikrobiyal çeşitliliğin yanı sıra *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* cinslerinin sağlıklı bebeklerin annelerinde daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bu farklılık, *Bifidobacterium*'daki azalmanın, lipid metabolizmasını dolaylı yoldan etkilemesi sonucu fetal kardiyovasküler sistemin yeterince gelişmemesine atfedilmiştir (Wang vd., 2021). Bağırsak mikrobiyotası ile prematüre retinopatisi arasındaki ilişkiyi araştıran başka bir çalışmada ise, 28 haftalık tip-1 retinopatili preterm bebeklerde, sağlıklı preterm yaşlıtlarına göre *Enterobacteriaceae*'nin daha yaygın olduğu rapor edilmiş, bu ilişkide, mikrobiyotanın vasküler endotelial büyüme faktörü üzerindeki düzenleyici rolünün olabileceği hipotez edilmiştir (Skondra vd., 2020).

1.1.4.2. Yaşamın Diğer Dönemlerinde Hastalıklar ve Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü

Yaşamın ilerleyen dönemlerinde, benzer fizyolojik yollar üzerinden mikrobiyotanın farklı hastalıkların oluşumu üzerine etkisinden söz etmek mümkündür. Bağırsak mikrobiyomunun bileşimi ve işlevindeki farklılıklar, gastrointestinal, inflamatuvar, nörolojik, kardiyovasküler, metabolik ve solunum sistemiyle ilişkili pek çok rahatsızlıkla ilişkilendirilebilmektedir (Vijay ve Valdes, 2021).

Romatoid artrit: Romatoid artrit, eklem hasarıyla kendini gösteren sistemik otoimmün bir hastalıktır. Hayvan modellerinde yapılan deneyler, bağırsak mikrobiyotasının, lokal ve sistemik bağışıklığı etkileyerek eklem iltihabını tetikleyebileceğini göstermektedir (Dorożyńska vd., 2014). Bununla birlikte, steril farelerin, deneysel artrit gelişiminden korunduğu gözlemi, mikrobiyomun bu hastalığın hem oluşumunda hem de semptomların ortaya çıkmasında olası bir rolü olabileceğine dikkat çekmektedir (Scher vd., 2013). Artriti olan bireylerde otoantikör seviyeleri ve hastalık süresinin, bağırsak mikrobiyal çeşitliliği ile negatif ilişkili olduğu gözlemi, hayvan modellerine benzer şekilde, insanlarda da bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun, artritin ve/veya semptomlarının açığa çıkmasında etkili bir değişken olabileceğine yönelik kanıt sunmaktadır (Wells vd., 2020). Bakteri çeşitliliğinin yanı sıra, romatoid artritle hastalarda, *Prevotella copri* başta olmak üzere *Prevotella* (Wells vd., 2020) ve *Collinsella* türlerinde bir artış görülürken, *Faecalibacterium* cinsi (Chen vd., 2016) azalabilmektedir. In vitro deney sonuçları, özellikle *Collinsella Aerofaciens*'in, bağırsak geçirgenliğini artırdığını ve artritin patogenezinde yer alan anahtar bir sitokin olan IL-17A ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir (Chen vd., 2016).

Tip 1 Diyabet: Bağırsak mikrobiyotasındaki bakteri kompozisyonun çeşitliliği ve mikrobiyomda meydana gelen değişiklikler ile ilişkisi kurulan bir diğer otoimmün hastalık tip 1 diyabetir. Hayvan modellerinden elde edilen verilere göre, antibiyotiğe bağlı disbiyozis, mikrobiyal lipid metabolizmasının değişmesine ve enterik yardımcı T hücre 17 (Th17) ve regülatör T hücre (T-reg) popülasyonlarının baskılanmasına neden olarak, tip 1 diyabet benzeri hastalık insidansının artmasına neden olabilmektedir (Livanos vd., 2016). Çeşitli insan temelli çalışmalar da tip 1 diyabet ile bağıntılı olarak bağırsak mikrobiyotasının değişebileceğini bildirmiştir (Alkanani vd., 2015; Maffeis vd., 2016; Mejía-León vd., 2014). Bu çalışmalardan elde edilen ortak bulgular, tip 1 diyabet vakalarında, *Bacteroides* cinsinin arttığına ve SCFA üreten bakteri türlerinin azaldığına işaret etmektedir (De Goffau vd., 2013; De Goffau vd., 2014). Spesifik olarak, *Faecalibacterium prausnitzii*'nin diyabetle ilişkili otoantikörleri olan çocuklarda, sağlıklı yaşlılarına göre anlamlı derecede azaldığı rapor edilmiştir (De Goffau vd., 2013).

İrritabl bağırsak sendromu: İrritabl bağırsak sendromu (IBS) genellikle karın ağrısı ve değişen bağırsak alışkanlıkları ile karakterize bir rahatsızlıktır. Hastalığın etiyolojisi çok faktörlü olmasına karşın, güncel bilgiler, bağırsak mikrobiyotasındaki varyasyonların, hastalığa bağlı düşük dereceli bağırsak iltihabıyla ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır (Brint vd., 2011). Yapılan bir çalışmada, IBS'li hastalar ve sağlıklı kontrollerin bağırsak

mikrobiyotası arasında anlamlı bir fark olduğu rapor edilmiştir. Buna göre IBS'li bireylerin mikrobiyotasında, *Bifidobacterium spp.* ve *Faecalibacterium spp.* gibi yararlı bakteriler daha azken, *Firmicutes* - spesifik olarak *Ruminococcus*, *Clostridium* ve *Dorea* – daha yaygındır (Rajilić-Stojanović vd., 2011). Sistematik derleme sonuçları ise, IBS'de, patojen olarak tanımlanan *Proteobacteria* şubesi, *Enterobacteriaceae* familyası – spesifik olarak *Escherichia*, *Shigella*, *Campylobacter* ve *Salmonella* –, *Lactobacillaceae* familyası ve *Bacteroides* cinsinin potansiyel olarak arttığına işaret etmektedir (Pittayanon vd., 2019).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları: Uzun süreli inflamasyon ve kolon ülserasyonu, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBD) altında incelenen Crohn's hastalığı ve ülseratif kolitin temel şikayetleri arasında yer alır. Her iki hastalık da, gastrointestinal sistemin kronik ve tekrarlayan inflamasyonu ile karakterizedir. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının başlangıcının, bağırsaktaki tek bir organizmanın mevcudiyeti ve/veya yoksunluğundan ziyade, genel bir mikrobiyal disbiyozis ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Lepage vd., 2011). Bağırsak mikrobiyotası ile IBD arasındaki ilişki, mikrobiyotanın mukozal lezyonların gelişimi üzerindeki olası etkisine atfedilmektedir (Manichanh vd., 2012). Sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında IBD olan hastalarda bağırsak mikrobiyotasının hem bileşiminde hem de işlevinde birtakım değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir. Genel olarak, IBD'deki mikrobiyal disbiyozis, mikrobiyotanın çeşitliliği ve stabilitesindeki azalma ile birlikte tanımlanmaktadır (Martinez vd., 2008; Ott vd., 2004; Walker vd., 2011). Spesifik olarak, *Firmicutes* şubesinin nispi oranının azalması ve *Proteobacteria* şubesinin nispi oranının artması, IBD üzerine yapılan mikrobiyom çalışmalarının en tutarlı sonucudur. IBD hastaları arasında, özellikle Crohn's hastalığı olan hastalarda, sağlıklı kontrollerin aksine *Firmicutes* şubesi altındaki *Ruminococcaceae* ve *Lachnospiraceae* familyalarına ait türlerin azaldığı rapor edilmiştir (Kostic vd., 2014; Matsuoka ve Kanai, 2015; Mottawea vd., 2016). İnsan bağırsağında bütirat üreten bakterilerin çoğu – özellikle *F.prausnitzii* ve *Roseburia sp.* – bu familyalar altında sınıflandığından, IBD'de bu bakterilerin azalması, hastalarda, daha düşük bütirat üretme kapasitesi de dahil olmak üzere fonksiyonel düzeyde gözlenen diğer değişikliklerle ilişkilendirilebilmektedir (Marchesi vd., 2007).

Kardiyovasküler hastalıklar: Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve metabolik potansiyeli, kardiyovasküler hastalık gelişimine katkıda bulunan önemli faktörler arasında yer almaktadır (Tang vd., 2017). Yapılan bir çalışmada, sıçan mikrobiyotası ile miyokard enfarktüsü arasında güçlü bir ilişkinin varlığına dikkat çekilmiştir (Lam vd., 2012). Bununla birlikte, insan denekler üzerinde yapılan çalışmalar, tutarlı sonuçlar elde edememiştir.

TwinsUK kohortunda, incelenen 68 farklı mikrobiyota biyobelirteci ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki rapor edilmemiştir (Jackson vd., 2018). Buna karşın, 529 bireyle yapılan CARDIA çalışmasında, mikrobiyal çeşitlilik ile sistolik kan basıncı arasında negatif bir ilişki gösterilmiştir (Sun vd., 2019). FINRISK çalışmasında ise, mikrobiyota kompozisyonu ve kan basıncı arasında zayıf korelasyon bulunmasına karşın, hipertansiyonu olan bireylerde, çoğu *Firmicutes* şubesine ait cinsten birtakım farklılıklar rapor edilmiştir. Buna göre, *Lactobacillus* türlerinin – özellikle *Lactobacillus paracasei*'nin – mevcudiyeti ile kan basıncı arasında negatif bir ilişkinin varlığından söz edilmektedir (Palmu vd., 2020).

Tip 2 Diyabet: Tip 2 diyabette sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının değişikliğe uğradığı bilinmektedir. Ancak güncel literatür, bu değişimin bir neden mi yoksa bir sonuç mu olduğu sorusunu cevaplamada henüz yetersiz kalmaktadır. Yaygın olarak bildirilen çalışma sonuçlarına göre, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia* ve *Roseburia* cinsleri ile tip 2 diyabet arasında negatif bir ilişki mevcut iken, *Ruminococcus*, *Fusobacterium* ve *Blautia* cinsleri tip 2 diyabet ile pozitif ilişkilidir (Gurung vd., 2020; Larsen vd., 2010). Büyük ölçekli bir metagenom çalışmasının verileri, sağlıklı bireylerde, bütirat üreten *Lactobacillus* türlerinin, tip 2 diyabetli bireylere göre daha yaygın bulunduğu işaret etmektedir (Wang vd., 2012). Genel olarak tip 2 diyabet, bütirat üreten bakteriler ve SCFA'nın gastrointestinal sistemdeki mevcudiyetinin azalması ile karakterizedir (Vrieze vd., 2014). Kısa zincirli yağ asitleri, spesifik G protein reseptörleri (GPR41, GPR43) aracılığıyla glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) salınımını tetikleyerek pankreas fonksiyonu, insülin salınımı ve iştah merkezi üzerinde düzenleyici bir etkiye sahiptir. Bağırsak mikrobiyomu ve tip 2 diyabet arasındaki ilişkide de, GLP-1 salınımının bahsi geçen mekanizmalar üzerindeki regülatör rolünün etkili olduğu düşünülmektedir (Fava, 2014; Tolhurst vd., 2012).

Obezite: Bağırsak mikrobiyotası ile obezite arasındaki ilişkiye dair öncül kanıtlar, steril fareler ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Buna göre, geleneksel yolla yetiştirilen farelerden steril farelere yapılan dışkı transplantasyonu, steril farelerde besin tüketimi azaldığı durumda dahi adipozite ve insülin direncinde artışa sebebiyet verebilmektedir (Bäckhed vd., 2004). Bu veri, bağırsak mikrobiyotasının, konakçıda, obezite ve obeziteyle ilişkili metabolik yollar üzerinde düzenleyici etkisi olabileceğini düşündürmektedir. İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar da obezitede, hem mikrobiyal çeşitliliğin hem de bakteri kompozisyonunun sağlıklı bireylerden farklı olabileceğini doğrulamaktadır (Duan vd., 2021; Heiss ve Olofsson, 2018). Gen dizilim çalışmaları, obezitenin iki baskın bakteri şubesi - *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* - ile ilişkili olabileceğine işaret etmektedir. Özellikle hayvan

çalışmaları, obezitede *Bacteroidetes*'te %50 azalma meydana gelirken *Firmicutes* şubesinde orantılı bir artış rapor etmiş ve *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının obezite için önemli bir biyobelirteç olabileceğine dikkat çekmiştir (Ley vd., 2005; Turnbaugh vd., 2006). İnsanlarda ise *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının obeziteyle pozitif ilişkili olabileceğine dair kanıtlar mevcut olsa da (Indiani vd., 2018; Koliada vd., 2017), bu alanda yapılan çalışmalar tutarlılık arz etmemektedir (Duan vd., 2021; Zhang vd., 2009).

Spesifik bakteri grupları ve obeziteyi ilişkilendiren çalışmaların sonuçları, *Christensenellaceae* familyası ile *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* ve *Akkermansia* cinsleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Verilere göre *Christensenellaceae* familyasının bağırsak mikrobiyotasındaki nispi çokluğu, konak beden kütle indeksi (BKİ) ile ters orantılıdır (Waters ve Ley, 2019). *Akkermansia muciniphila* ile yapılan takviye çalışmaları ise, bu bakteri türünün aşırı kilolu ve obez bireylerde metabolik parametreleri iyileştirmede etkili olabileceğini göstermektedir (Depommier vd., 2019). Bununla birlikte, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinin konak vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin türe özgü olduğu bildirilmiştir. Buna göre, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium animalis* ve *Lactobacillus gasseri* obezite ile negatif ilişkili iken *Lactobacillus reuteri*'nin, obezite ile önemli ölçüde pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Crovesy vd., 2017; Million vd., 2011).

Obezitenin BKİ ile tanımlanması, çoğu çalışmada referans kabul edilse de, vücuttaki yağ kütlesi dağılımı, metabolik parametreler ve bedensel sağlıkla daha yakından ilişkilidir. Vücut yağının dağılımına göre obezite, subkutan (deri altı) ve visseral (abdominal) obezite olarak iki alt grupta incelenebilir. Visseral obezitede organ çevresinde yağlanma söz konusu olduğundan, bu grup, çoğunlukla kronik hastalıklara daha yatkındır. Yapılan bir çalışmada, morbid obezitede *Firmicutes*'in nispi çokluğunun, subkutan yağ dokusundaki kahverengi adipozitler ile pozitif ilişkili olabileceğine yönelik kanıt sunulmuştur (Moreno-Navarrete vd., 2018). Bu veri, her ne kadar *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı, yüksek bir BKİ ile ilişkilendirilse de, *Firmicutes*'in göreceli bolluğunun, sağlıklı bir obezite fenotipinin belirteci olabileceğini de düşündürmektedir. Probiyotik özelliği olduğu bilinen bazı bakteri türleri de, özellikle visseral obezitenin geriye çevrilmesinde etkili olabilmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmadan elde edilen sonuçlar, *Akkermansia* popülasyonunun nispi çokluğunun, yüksek yağlı/yüksek şekerli diyetle beslenen farelerde vücut ağırlığını ve iç organ yağlanmasını azaltmada etkili olabileceğine işaret etmektedir (Anhê vd., 2015). Bununla birlikte, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bifidobacterium lactis* ve

Bifidobacterium breve içeren probiyotik bir karışım ile takviye yapılmasının, 12 haftanın sonunda, hem BKİ hem de intrahepatik yağ fraksiyonunu azaltmada anlamlı bir etki oluşturduğu bildirilmiştir (Ahn vd., 2019). Yaşlı bireylerde ise, *Christensenellaceae*, *Porphyromonadaceae* ve *Rikenellaceae*'nin nispi çokluğunun, visseral yağ dokusunun azalmasına katkıda bulunabileceği rapor edilmiştir (Tavella vd., 2021).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) ve daha ileri evresi olan non-alkolik steatohepatit (NASH), obezite ve tip 2 diyabetin yaygın komorbiditeleridir. Bağırsak disbiyozisi ve NAFLD arasındaki ilişkide, epitel bariyer bütünlüğünün bozulması ve bağırsak geçirgenliğinin artmasının hastalıktan sorumlu temel mekanizma olduğu düşünülmektedir. Bariyer bütünlüğünün bozulmasıyla, portal venden karaciğere taşınan patojen bakteriler, karaciğer dokusunda endotoksemiye neden olabilmektedir (Vijay ve Valdes, 2021). Yapılan çalışmaların sonuçları, sağlıklı ve NAFLD'li bireylerin bağırsak mikrobiyotasında birtakım farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Buna göre, NAFLD'nin ileri evrelerinde bakteri çeşitliliğinde meydana gelen azalmanın yanı sıra (Astbury vd., 2020; Shen vd., 2017), *Proteobacteria* şubesi, *Enterobacteriaceae* familyası ve *Collinsella*, *Escherichia*, *Dorea* cinslerinde bir artış, *Coprococcus*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium* ve *Prevotella* cinslerinde ise bir azalmadan söz edilebilmektedir (Astbury vd., 2020; Hoyles vd., 2018; Shen vd., 2017). Ek olarak, NAFLD'de bütirat üretiminden sorumlu olduğu bilinen *F.prausnitzii*'nin seviyelerinin azaldığı da bildirilmiştir (Iebba vd., 2018). Yine de, çalışma sonuçları henüz, tüm hastalar için benzer bulguları destekleyecek tutarlı sonuçlar sunmamaktadır.

Kronik böbrek hastalığı: Bağırsak mikrobiyotası ve kronik böbrek hastalığı arasındaki olası ilişkiyi odak alan çalışmalar, böbrek-bağırsak ekseninde çift yönlü bir etkileşimin varlığından söz etmektedir. Buna göre, böbrek fonksiyonlarının bozulması, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve fonksiyonlarını önemli ölçüde etkileyebildiği gibi, bağırsak disbiyozisi de inflamatuvar, endokrin ve nörolojik yollar aracılığıyla kronik böbrek hastalığının başlangıcına ve ilerlemesine sebep olan süreçleri tetikleyebilmektedir (Vijay ve Valdes, 2021). Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, bağırsak mikrobiyal çeşitliliğinin azalmasının yanı sıra bazı bakterilerin oransal miktarlarında da değişiklikler meydana gelebilmektedir (Onal vd., 2019). Buna göre *Bifidobacterium*, *Lactobacillaceae*, *Bacteroidaceae*, *Akkermansia* ve *Prevotellaceae* cinslerinde kronik böbrek hastalığı ile bir düşüş gözlenirken, *Enterobacteriaceae* familyasının; özellikle *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* ve *Enterococci* cinsleri ile *C.perfringens*'in miktarı artabilmektedir (Jazani vd.,

2019; Sircana vd., 2019). Bu suşlara ek olarak, kronik böbrek hastalığının ilerlemesinde önemli bir risk faktörü olarak tanımlanan IL-10 seviyeleri ile probiyotik olarak bilinen *Akkermansia muciniphilla*'nın nispi miktarı arasında negatif bir korelasyon da ayrıca bildirilmiştir (Li vd., 2019).

Mental rahatsızlıklar: Bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkilendirilen bir diğer hastalık grubu da mental rahatsızlıklardır. Bağırsak mikrobiyotasının, insan beynini; (1) vagus siniri ve enterik sinir sistemini içeren nöral yolak, (2) sitokin aktivitesini içerek bağışıklık sistemi ve (3) hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini ile bağırsak hormonlarını içeren endokrin yolak aracılığıyla modüle ettiği düşünülmektedir. Bahsi geçen bu üç bağlantıda meydana gelecek bir işlev bozukluğu, mental rahatsızlıkların tezahürüne yol açabilmektedir. Literatürdeki verileri özetleyen bir derleme çalışmasının verileri, genel olarak *Firmicutes* ve *Actinobacteria* şubeleri ile *Bacteroides* ve *Bifidobacterium* cinslerinin, mental rahatsızlıklar ile yaygın olarak ilişkilendirildiğine işaret etmektedir (Vijay ve Valdes, 2021). Hastalık özelinde incelendiğinde, şizofreni ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunda (DEBH), *Lactobacillus* türleri ile *Bifidobacterium*'un arttığı (Checa-Ros vd., 2021; Zhu vd., 2020); post-travmatik stres bozukluğunda, *Actinobacteria*, *Lentisphaerae* ve *Verrucomicrobia*'nın azaldığı (Hemmings vd., 2017); depresyonda, *Eggerthella*, *Holdemania*, *Turicibacter* ve *Paraprevotella*'nın artarken *Prevotella* ve *Dialister*'in azaldığı (Kelly vd., 2016); genel anksiyete bozukluğunda, *Bacteroidetes*, *Ruminococcus gnavus* ve *Fusobacterium*'un azalırken (Jiang vd., 2018) *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae* ve *Burkholderiaceae*'nin arttığı (Chen vd., 2019); demansta ise *Escherichia*, *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Dorea* türlerinin artarken *Actinobacteria* ve *Bacteroides*'in azaldığı rapor edilmiştir (Zhuang vd., 2018). Bu veriler incelendiğinde, bazı mental rahatsızlıklarda, pek çok hastalığın aksine, SCFA üretiminden sorumlu bakteri cinslerinde artış meydana gelmesi dikkat çekmektedir. Bu durum literatürde, SCFA'nın, nöronlarda mitokondriyal enerji kaynağı olarak kullanılmasıyla kontrolsüz reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin oluşumuna sebebiyet verebilmesine atfedilmektedir (Checa-Ros vd., 2021).

Bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu ve ilişkili sağlık risklerine yönelik güncel literatürde çok sayıda çalışma yer almaktadır. Bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun şekillenmesinde ve değişiminde, pek çok farklı faktörün etkili olarak, dolaylı yoldan yukarıda tanımlanan sağlık risklerine katkıda bulunabileceği hipotez edilebilir.

Beslenme, bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkisi tanımlanan en önemli çevresel faktörlerden bir tanesidir. Gelişmiş toplumlarda, diyet örüntüsü içerisinde tüketilen pek çok besin maddesi, gıda katkı maddelerini bünyesinde barındırmaktadır. Gıda katkı maddelerinin – özel olarak tartrazin – sağlık ve mikrobiyota üzerine etkileri son yıllarda önem kazanan bir konudur. Gıda katkı maddeleri – özel olarak tartrazin – ve mikrobiyota ilişkisi, ileri bölümlerde detaylandırılarak ele alınacaktır.

1.2. Gıda Katkı Maddelerinin Tanımı ve Sınıflandırılması

Günümüzde tüketiciler, pek çok besin çeşidine yıl boyu ulaşabilme beklentisi taşımaktadır. Besin tedarikçileri tarafından yıl boyunca birçok farklı ülkeden taze sebze, meyve balık ve et çeşitlerinin yanı sıra hazır salatalar, ekmekler, konserve etler, pişirmeye hazır kısmen hazırlanmış yemekler, soslar, şekerlemeler, içecekler ve dondurulmuş ürünleri tüketicilerine sunulmaktadır. Tüm bu ürünler, hasattan rafa ve hatta tüketicinin sofrasına gelinceye kadar olan süreçte tazeliğini korumak durumundadır. Bununla birlikte, sağlıklı beslenmeye yönelik farkındalığın artması ile birlikte, az yağlı, düşük enerjili, az tuzlu vb. tüketim ürünlerine olan talep de artış göstermektedir. Tüm bu talepleri karşılayabilmek adına besin endüstrisinde gıda katkı maddelerinin kullanımı kaçınılmaz hale gelmiştir (Saltmarsh ve Lynn, 2013).

Gıda katkı maddelerinin kullanımının tüm dünyada yaygınlaşmasıyla birlikte, bu maddelerin kapsamına ilişkin genel standartların tanımlanmasına yönelik bir ihtiyaç doğmuştur. Bu bağlamda, farklı otoritelerin gıda katkı maddelerine ilişkin tanımları aşağıda sunulmuştur:

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ortaklığındaki *Codex Alimentarius Komisyonu* Uluslararası Besin Standartlarına göre gıda katkı maddesi, “normalde kendi başına bir besin olarak tüketilmeyen ve eklendiği besinin tipik bir bileşeni olmayan, besleyici değeri olsun ya da olmasın, besine, üretim, işleme, hazırlama, paketlenme, taşınma veya depolama süreçlerinde teknolojik (organoleptik dahil) bir amaç için kasıtlı olarak ilave edilen, doğrudan veya dolaylı olarak kendisinin ve/veya yan ürünlerinin, eklendiği besinin bir bileşeni haline geldiği veya eklendiği besinin özelliklerini değiştirdiği herhangi bir madde” olarak tanımlanır. Terim, besin niteliklerini korumak veya iyileştirmek için gıdaya eklenen kontaminant maddeleri içermez (Codex Alimentarius Commission, 1995).

Amerikan Besin ve İlaç İdaresi'ne (FDA) göre gıda katkı maddesi, ""amaçlanan kullanımı - doğrudan veya dolaylı olarak - herhangi bir gıdanın bir bileşeni haline gelmesi ile veya başka bir şekilde herhangi bir gıdanın özelliklerini etkilemesiyle sonuçlanan veya sonuçlanması beklenebilecek herhangi bir madde" olarak tanımlanır (FDA, 2010).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesine (EFSA) göre gıda katkı maddesi, "besinleri renklendirmek, tatlandırmak veya besinlerin korunmasına yardımcı olmak gibi belirli teknolojik işlevleri yerine getirmek amacıyla besin maddelerine kasıtlı olarak eklenen madde" olarak tanımlanır (EFSA, 2008).

Türk Gıda Kodeksine göre ise gıda katkı maddesi, "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 madde" olarak tanımlanır (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

Özellikle işlenmiş besinlerde istenilen kalitenin sağlanabilmesi adına hemen hemen tamamına yakınının, özelliklerine göre uygun katkı maddelerini içermesi gerekmektedir. Gıda katkı maddeleri, besin endüstrisinde aşağıdaki amaçlar gözetilerek kullanılır (Sun ve Wang, 2017):

1) *Besinlerin kalitesini ve duyuşsal özelliklerini iyileştirmek/geliştirmek.* Besinlerin rengi, kokusu, tadı, şekli ve dokusu kalite için önemli göstergelerdir. Besin işleme sürecindeki bazı işlemler, besinlerdeki duyuşsal kalitenin düşmesiyle sonuçlanabilir. Ulusal ve uluslararası otoritelerin yayınladığı standartlara uygun renklendiriciler, renk fiksatifleri, yenilebilir aromalar, koyulaştırıcı ajanlar, emülsifiyerler ve benzerlerinin eklenmesi, besinlerdeki duyuşsal kaliteyi açıkça artırabilir ve tat ve aromaya yönelik tüketici taleplerini karşılayabilir.

2) *Besin değerini korumak ve geliştirmek.* Besinlerde bulunan bazı besin öğeleri, ulusal ve/veya uluslararası yönergelere uygun koruyucu maddelerin eklenmesiyle üretim ve depolama esnasında meydana gelebilecek kayıplara karşı korunabilir. Uygun katkı maddelerinin eklenmesiyle besinlerde, oksidasyona bağlı bozulma ve besin ögesi kaybı önlenilebileceği gibi, besin değeri arttırılarak, yetersiz beslenmenin de önüne geçilebilir.

3) *Besin güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü uzatmak.* Gıda katkı maddeleri, besin güvenliğini sağlanmasında ve raf ömrünün uzatılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Günümüzde besin güvenliğınden kaynaklı sorunların başında, besinlerin patojenik mikrobiyal kontaminasyonundan kaynaklanan hastalıklar gelmektedir. Koruyucu içermeyen pek çok besin, üretim sürecini takiben hemen bozulabilir ve tüketildikten sonra ciddi sağıık sorunlarına yol açabilir. Koruyucuların ve antioksidanların kullanılması, besinlerin raf ömrünü uzatabilir ve son kullanma tarihine kadarki süreç boyunca uygun koşullarda saklanmak koşuluyla besin güvenliğini garanti edebilir.

4) *Besin işleme, depolama ve nakliyesini kolaylaştırmak.* Gıda katkı maddeleri, besin işleme sürecinde son üründe talep edilen özelliklere göre katılaştırma, köpük giderme ve stabilitenin sağlanabilmesi için kullanılabilir.

5) *Özel ihtiyaçları olan bireylerin gereksinimlerini karşılayabilmek.* Pek çok tatlandırıcı, şükroz tüketemeyen diyabet hastalarının talepleri doğrultusunda besin endüstrisindeki yerini almıştır. Buna benzer pek çok özel durum ve hastalığıı uygun olarak, işlenen besinlerde amaca yönelik uygun gıda katkı maddelerinin kullanımı söz konusudur (Sun ve Wang, 2017).

Gıda katkı maddeleri bitkilerden, hayvanlardan veya minerallerden elde edilebileceğı gibi sentetik de olabilir. Endüstride kullanılan çok sayıda gıda katkı maddesi, besinleri daha güvenli veya tüketici için daha çekici hale getirmek üzere tasarlanmıştır (WHO, 2018). Çizelge 1.2'de işlevlerine göre gıda katkı maddeleri, kullanım alanları ve örnekleriyle birlikte özetlenmiştir.

Çizelge 1.2. İşlevlerine göre gıda katkı maddelerinin sınıflandırılması (FDA, 2010)

Gıda Katkı Maddesi	İşlevi	Kullanım Alanları	Örnekler
Koruyucular ve Antioksidanlar	Besinleri bakteri, küf mantar ve maya kaynakları bozulmalardan korur; renk, tat ve doku değişimini yavaşlatır ve/veya durdurur; acılaşmayı geciktirir (antioksidanlar); tazeliği korur	Meyve sosları ve jöleler, içecekler, unlu mamuller, tütülenmiş etler, yağlar ve margarinler, tahıllar, soslar, atıştırmalık yiyecekler, meyve ve sebzeler	Askorbik asit, sitrik asit, sodyum benzoat, kalsiyum propiyonat, sodyum eritorbat, sodyum nitrit, kalsiyum sorbat, potasyum sorbat, tokoferoller (E Vitamini)
Tatlandırıcılar	Enerji değeri ile veya enerji değeri olmaksızın tatlılık verir	İçecekler, unlu mamuller, şekerlemeler, sofralık şekeri, birçok işlenmiş besin	Sükroz (şeker), glikoz, fruktoz, sorbitol, mannitol, mısır şurubu, yüksek fruktozlu mısır şurubu, sakarin, aspartam, sukraloz, asesülfam potasyum (asesülfam-K), neotam
Renklendiriciler	Işık, hava, sıcak, nem ve saklama koşullarına maruziyet sebebiyle oluşan renk kayıplarını telafi eder; besinlerde doğal olarak var olan renkleri belirginleştirir; doğal olarak renksiz besinleri renklendirir	Pek çok işlenmiş besin (şekerler, atıştırmalık yiyecekler margarin, peynir, alkolsüz içecekler, reçeller/jöleler, jelatinler, puding ve turta dolguları)	FD&C Blue No. 1 ve 2, FD&C Green No. 3, FD&C Red No. 3 ve 40, FD&C Yellow No. 5 ve 6, Orange B, Citrus Red No. 2, annatto özü, beta-karoten, üzüm kabuğu özü, karmin, paprika oleoresin, meyve ve sebze suları, safran
Aroma ve Baharatlar	Doğal veya sentetik olarak besinlere spesifik tatlar verir	Puding ve turta dolguları, jelatinli tatlı karışımları, kek karışımları, salata sosları, şekerlemeler, alkolsüz içecekler, dondurma, barbekü sosu	Doğal tatlandırıcı, yapay tatlandırıcı ve baharatlar

Çizelge 1.2. Devam: İşlevlerine göre gıda katkı maddelerinin sınıflandırılması (FDA, 2010)

Gıda Katkı Maddesi	İşlevi	Kullanım Alanları	Örnekler
Yağ Yerine Geçenler	Az yağlı besinlerde beklenen doku ve kremesi yapmayı sağlar	Unlu mamuller, soslar, dondurulmuş tatlılar, şekerlemeler, kek ve tatlı karışımları, süt ürünleri	Olestra, selüloz, polidekstroz, modifiye gıda nişastası, yumurta akı proteini, guar sakızı, ksantan sakızı, peynir altı suyu proteini konsantresi
Besin öğeleri	İşleme sırasında kayba uğrayan vitamin ve minerallerin tekrar ilave edilmesini (zenginleştirme) veya besinde doğal olarak bulunmayan öğelerin eklenmesini (fortifikasyon) içerir	Un, ekmekler, tahıllar, pirinç, makarna, margarin, tuz, süt, meyveli içecekleri, enerji barları, hazır kahvaltılık içecekler	Tiamin hidroklorür, riboflavin, niasin, niasinamid, folat veya folik asit, beta karoten, potasyum iyodür, demir veya demir sülfat, alfa tokoferoller, askorbik asit, D Vitamini, amino asitler (L-triptofan, L-lizin, L-lösin, L-metiyonin)
Emülgatörler	Bileşenlerin düzgün karışmasını sağlar, ayrışmayı önler; emülsifiye ürünlerin stabilitesini sağlar; yapışmayı önler; kristalleşmeyi kontrol eder; ürün içerisindeki bileşenlerin birbiri içerisinde çözünmesine yardımcı olur	Salata sosları, fıstık ezmesi, çikolata, margarin, dondurulmuş tatlılar	Soya lesitini, mono- ve digliseritler, yumurta sarısı, polisorbattlar, sorbitan monostearat
Stabilizatörler ve Koyulaştırıcılar, Bağlayıcılar, Dokulaştırıcılar	Besinde arzu edilen dokunun elde edilmesini sağlar	Dondurulmuş tatlılar, süt ürünleri, kekler, puding ve jelatin karışımları, soslar, reçeller ve jöleler, soslar	Jelatin, pektin, guar sakızı, ksantan sakızı, peynir altı suyu
pH Kontrol Ajanları ve Asitlik Düzenleyiciler	Asitliği kontrol ederek bozulmayı önler	İçecekler, dondurulmuş tatlılar, çikolata, konserveler, kabartma tozu	Laktik asit, sitrik asit, amonyum hidroksit, sodyum karbonat

Çizelge 1.2. Devam: İşlevlerine göre gıda katkı maddelerinin sınıflandırılması (FDA, 2010)

Gıda Katkı Maddesi	İşlevi	Kullanım Alanları	Örnekler
Kabartıcılar	Unlu mamullerin kabarmasını teşvik eder	Ekmekler ve diğer unlu mamuller	Kabartma tozu, monokalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat
Topaklanmayı önleyiciler	Toz gıdalarda topaklanmayı ve nem emilimini önler	Tuz, kabartma tozu, pudra şekeri	Kalsiyum silikat, demir amonyum sitrat, silikon dioksit
Nem vericiler	Besinlerde nemliliğin korunmasına yardımcı olur	Rendelenmiş hindistan cevizi, marshmallow, yumuşak şekerler, şekerlemeler	Gliserin, sorbitol
Un İşlem Maddeleri	Daha stabil yapıda bir hamur elde edilmesini sağlar	Ekmekler ve diğer unlu mamuller	Amonyum sülfat, azodikarbonamid, L-sistein
Sertleştiriciler	Gevreklik ve sıkı dokunun korunumunu sağlar	İşlenmiş sebze ve meyveler	Kalsiyum klorür, kalsiyum laktat
Enzim preperatları	Protein, polisakkarit ve yağların modifikasyonuna olanak tanır	Peynir, süt ve et ürünleri	Enzimler, laktaz, papain, kimozen
Gazlar	Besinlerde itici gaz oluşumunu, havalandırmayı veya karbonatlaşmayı sağlar	Yağlı pişirme spreysi, krem şanti, gazlı içecekler	Karbon dioksit, nitroz oksit

Avrupa Birliği'nde her gıda katkı maddesinin, E harfini (Avrupa'nın-*Europe*-baş harfini simgeler) ve ardından üç veya dört haneyi içeren bir kodu vardır. Bu numaralandırma şeması, Codex Alimentarius Komitesi tarafından belirlenen Uluslararası Numaralandırma Sistemine (INS) uygun olarak oluşturulmuştur (Silva ve Lidon, 2016). Bu kodlama sistemine göre, E100-199 aralığındaki kodlar renklendiricileri; E200-299 aralığındaki kodlar koruyucuları; E300-399 aralığındaki kodlar antioksidanları ve asitlik düzenleyicileri; E400-499 aralığındaki kodlar koyulaştırıcı, stabilizatör ve emülgatörleri; E500-599 aralığındaki kodlar pH kontrol ajanları ve topaklanmayı önleyicileri; E600-699 aralığındaki kodlar aroma arttırıcıları; E700-799 aralığındaki kodlar antibiyotikleri; E900-999 aralığındaki kodlar parlaticılar, gazlar ve tatlandırıcıları, E1100-1159 aralığındaki kodlar ise diğer katkı maddelerini tanımlar. Dünyada yaygın olarak tercih edilen bu kodlama sistemi, ülkemizde de yasal mevzuat çerçevesinde besin etiketlemesinde kullanılmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

1.2.1. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanımına İlişkin Yasal Mevzuat

Uluslararası sahada gıda katkı maddelerine ilişkin standartlar Codex Alimentarius tarafından belirlenir. İlk uluslararası besin standartları ve kılavuzları koleksiyonu olarak bilinen Codex Alimentarius, 1962 yılının başlarında FAO ve WHO tarafından kurulmuştur. Codex Alimentarius çerçevesinde Gıda Katkı Maddeleri ve Kontaminantları Kodeks Komitesi (CCFAC) faaliyet göstermektedir. Bu komite, özellikle gıda katkı maddeleri ve kirleticilerine odaklanır ve gıda katkı maddeleri için izin verilen maksimum kullanım seviyelerine yönelik öneriler yayınlar. Codex Alimentarius ve WHO/FAO, Gıda Katkı Maddeleri için Genel Standartlar (GSFA) adı verilen, gıda katkı maddelerinin biyolojik faaliyetlerine ilişkin mevcut kanıtları toplayan bir veri tabanı geliştirmiştir. Bu standartların amacı, dünya besin ticareti bağlamında kullanımı uygun bulunan katkı maddelerine ilişkin uluslararası kuralları uyumlaştırmaktır (Amchova vd., 2015).

Besin standartlarının oluşturulması ve güncellenmesinde CODEX, tüketicilerin sağlığını ve çıkarlarını korumak için uluslararası düzeyde birçok komite ile birlikte çalışmaktadır. Bu komiteler arasında en geniş ölçekli yapıya sahip komisyon, FAO ve WHO'nun ortak komisyonu olan “Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzmanlar Komitesi” (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - JECFA)'dir. Bu komisyon, gıda katkı maddelerinin güvenliği, kalitesi ve etkinliği konularında bağımsız bir bilimsel değerlendirme yapar. Bu değerlendirmeler kapsamında, gıda katkı maddelerinin fiziksel ve kimyasal yapıları, ayrışma ürünleri, besinler ile etkileşimleri ve kabul edilebilir günlük alım limitleri (ADI) detaylı olarak incelenir. JECFA tarafından yapılan bu değerlendirmeler, gıda katkı maddelerinin kullanımına yönelik uluslararası düzenlemelerde kullanılır (WHO vd., 1987).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), gıda katkı maddelerine ilişkin regülasyonlar ve yasal mevzuat, CODEX esas alınarak FDA tarafından yürütülür. Avrupa'da ise bu işi, Avrupa Birliği Komisyonu üstlenir. Avrupa Birliği'nin tüm üye ülkeleri, gıda hukukunun genel ilkelerini ve gerekliliklerini belirleyen, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'ni kuran ve gıda güvenliği konularında prosedürleri tanımlayan 28 Ocak 2002 tarihli ve 178/2002 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Yönetmeliği'ni (EC) takip etmektedir. Bu koşullar, tüm ulusal kanun ve kararnamelere yansıtılmıştır. Bu yönetmelik uyarınca, Avrupa Birliği'nde kullanılan katkı maddelerinin öncelikle EFSA tarafından gözden geçirilmesi gerekmektedir. EFSA kararları CCFAC, JECFA gibi uluslararası kuruluşların yanı sıra bilimsel literatür, endüstri tarafından

yürütülen çalışmalar ve ulusal otoritelerin görüşlerine dayanmaktadır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, gıda katkı maddeleri hakkında değerlendirme yaparken, bu kaynakları birlikte kullanarak kapsamlı bir bilgi tabanı oluşturur ve sonuçları doğruluk ve güvenilirlik açısından değerlendirir. Değerlendirmelerini, Avrupa Komisyonu'nun talebi üzerine, resmi olarak "Bilimsel Görüş" adıyla EFSA Dergisi'nde yayınlar (Amchova vd., 2015). EFSA'nın Bilimsel Görüş'ünün içeriği; gıda katkı maddelerinin teknik ve kimyasal özellikleri, üretim sürecinin tanımı, tespit için kullanılan analitik yöntemler, besin ile kimyasal reaktivite, mevcut kullanım izninin özeti, doz aralığı, toksikokinetik bilgiler (emilim, dağılım, metabolizma ve atılım), akut oral toksisite, sub-kronik ve kronik toksisite, kanserojenlik, genotoksisite, gelişimsel ve üreme toksisitesi ve maddeye karşı aşırı duyarlılık gibi toksikolojik verilerden oluşmaktadır (EFSA, 2012).

Türkiye'de, gıda katkı maddelerinin denetimi ve kullanım onayı, Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından gerçekleştirilmektedir. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, gıda katkı maddelerinin güvenliği, kalitesi ve etkinliği konularında denetimler yapmakta ve gıda katkı maddelerine ilişkin yönetmelikleri belirlemektedir (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023b). Yasal mevzuat, Avrupa Birliği mevzuatını esas almakla birlikte AB'nin gıda katkı maddeleri ile ilgili yönetmeliklerini bünyesinde barındırmaktadır (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023a).

1.2.2. Gıda Katkı Maddeleri ile İlişkili Rapor Edilen Sağlık Sorunları

Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzmanlar Komitesinin, besin endüstrisinde kullanımına ilişkin bilimsel tavsiyesinin bulunduğu gıda katkı maddelerinin, sağlık için güvenilir olduğu varsayılsa da, literatürde, bazı gıda katkı maddelerine ilişkin olumsuz sağlık etkileri bildiren veriler mevcuttur (Carocho vd., 2014; Trasande vd., 2018). Gıda katkı maddeleriyle ilişkili rapor edilen olumsuz etkiler, tüketimden hemen sonra görülen akut yan etkiler ve uzun dönem kullanıma bağlı gelişen kronik yan etkiler olmak üzere ikiye ayrılabilir. Akut yan etkiler arasında baş ağrısı, konsantrasyon bozukluğu ve immün yanıt yer alırken; uzun dönem yan etkiler arasında kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer dejeneratif hastalıklar sayılabilir (Inetianbor vd., 2015). Erken yaşlarda ise, sentetik koruyucular ve yapay renklendiricilerin, DEHB ilişkili olabileceğine dair bilimsel kanıtlar mevcuttur (McCann vd., 2007). Çizelge 1.3.'te bazı gıda katkı maddeleri ve bu katkı maddelerine ilişkin rapor edilen sağlık sorunları özetlenmiştir (Carocho vd., 2014).

Çizelge 1.3. Bazı gıda katkı maddeleri ve bu katkı maddelerine ilişkin rapor edilen sağlık sorunları (Carocho vd., 2014)

Gıda katkı maddesi sınıfı	Gıda Katkı Maddesi	Rapor Edilen Sağlık Etkisi
Koruyucular	Sodyum benzoat	İnsan periferik lenfositlerinde klastojenik, mutajenik ve sitotoksik etki Hayvan modellerinde leptin salınımının bozulması sonucu obezitede artış Dermal komplikasyonlar
	Sodyum sorbat	Mutajenik etki
	Kalsiyum propiyonat	Çocuklarda irritabilite, dikkatsizlik, uyku bozuklukları
	Nitritler	Kanserojen etki
	Parabenler	Erkek üreme hücrelerinde azalma Kadınlarda meme kanseri riskinde artış
	Sülfidler	Deri ve respiratuar sistem duyarlılığı (dermatit, ürtiker, bronkokonstriksiyon, anafilaksi), karın ağrısı, diyare,
	Bütile hidroksianisol (BHA) ve Bütile hidroksitoluen (BHT)	Kanserojen etki
Renklendiriciler	Tartrazin	DNA'ya bağlanma kapasitesi yüksek İnsan lenfositlerinde toksik etki Primer safra sirozu riskinde artış Lipid peroksidasyonunda artış
	Sunset yellow	Hayvanlarda genotoksik etki - yavrularda hafıza ve öğrenme güçlüğü İmmünomodülatör ve ksenoöstrojenik etki
	Allura red	Yavru ratlarda öğrenme ve hafıza üzerine olumsuz etki Kolon hasarı
	Amarant	Kanserojen etki Ratlarda kolon hasarı İnsan lenfositlerinde genotoksik etki
	Kinolin sarısı	Ürtiker, astım, kaşıntı, hiperaktivite
	Eritrosin	Çocuklarda davranış bozuklukları ve tiroit disfonksiyonu İnsan lenfositlerinde genotoksik etki DNA yapısında bozulma Fare testislerinde toksisite ve farelerde davranış bozukluğu
Tatlandırıcılar	Sakarin	Farelerde vücut ağırlığı artışı Neoplazm riskinde artış
	Siklamat	Fetal gelişimde retardasyon Rat fetüslerinin endokrin pankreasında hipertrofi Genetik olarak yatkın bireylerde kanserojen etki
	Aspartam	Ratlarda hepatosellüler hasar, karaciğer antioksidan seviyesinde değişim ve davranış değişikliği Bazı koşullarda (yüksek sıcaklık ve bazik ortam) kanserojen etki

Çizelge 1.3. Devam: Bazı gıda katkı maddeleri ve bu katkı maddelerine ilişkin rapor edilen sağlık sorunları (Carocho vd., 2014)

Gıda katkı maddesi sınıfı	Gıda Katkı Maddesi	Rapor Edilen Sağlık Etkisi
Aroma arttırıcılar	MSG	İnsan ve hayvan modellerinde lipid peroksidasyonunu uyarıcı etki Farelerde sinaptik plastisiteyi bozucu etki Sıçan oositlerinde olumsuz etki İnsanlarda vücut ağırlık artışı
Emülgatörler	Polisorbat	Nöronlarda ve bazı hücrelerde sitotoksik etki Oksidatif stres duyarlılığında artış

Son dönemde bağırsak mikrobiyotasına yönelik çalışmaların artmasıyla birlikte, gıda katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki olası etkileri de araştırmacılar tarafından incelenmeye başlanmıştır. Bağırsak mikrobiyotasının genel sağlık üzerindeki etkilerine yönelik güçlü kanıtlar, katkı maddelerinin, mikrobiyota üzerinden sağlık üzerinde olumsuz bir etki yaratıp yaratmayacağı sorusunu gündeme getirmiştir. Elde edilen veriler, bazı gıda katkı maddelerinin, bağırsak mikrobiyotasında bakteriyel çeşitliliği ve faydalı suşların nispi miktarını azaltarak disbiyozis oluşturabileceğine işaret etmektedir (Cao vd., 2020; Gultekin vd., 2020; Laudisi vd., 2019). Ancak bu sonuçların genel sağlık üzerine etkilerinin yorumlanabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Gıda katkı maddelerine ilişkin bildirilen olumsuz sağlık etkileri tartışmalı olmasına karşın, bilimsel otoriteler, düzenli aralıklarla güncel çalışmaların sonuçlarını inceleyerek gıda katkı maddelerinin kullanımının güvenilirliğini ve ADI miktarlarını tekrar değerlendirmeye almaktadır (EFSA, 2008). Bilimsel otoritelerin hali hazırda kullanımda olan gıda katkı maddelerine ilişkin bilimsel görüşleri, bu katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki olası etkilerine yönelik değerlendirmeleri içermemektedir. Ancak ileri dönemlerde, bağırsak mikrobiyotasına ilişkin genel bilgi birikiminin artmasıyla, bu verilerin de gıda katkı maddelerinin güvenilirliğinin değerlendirilmesinde kullanılabileceği öngörülmektedir.

1.2.3. Tartrazin

Renklendiriciler grubu altında sınıflandırılan ve endüstride esas olarak gıda boyası olarak kullanılan tartrazin, limon sarısı renginde bir azo boyadır. Avrupa Birliği tarafından yapılan gıda katkı maddeleri kodlama sistemine göre E102 olarak adlandırılır. Literatürde, FD & C Yellow No. 5 ve CI Food Yellow 4 isimleri ile de tanımlanabilmektedir. Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan tartrazin, başta sarı renk vermek üzere kullanılmakla birlikte, çeşitli

yeşil tonları üretmek için Brilliant Blue FCF (FD&C Blue 1, E133) veya Green S (E142) ile beraber de kullanılabilir. Yaygın kullanıldığı yiyecek ve içecekler arasında alkollü ve alkolsüz içecekler, cips, hazır puding, bal, turşu, sakız, hardal, jelatin, soslar ve unlu mamüller sayılabilir. Bununla birlikte sıvı sabun, losyon, el temizleme jeli, parfüm, oje ve şampuanlarda da bulunabilmektedir (Amin ve Al-Shehri, 2018).

Tartrazinin besinlerde kullanımı için izin verilen miktarlar, AB mevzuatında tanımlanmıştır. Buna göre tartrazinin, yiyeceklerde maksimum 50 ila 500 mg/kg besin, alkollü içeceklerde maksimum 200 mg/L ve alkolsüz içeceklerde 100 mg/L'ye kadar kullanımına izin verilmektedir. Besinlerde rapor edilen maksimum kullanım miktarları ise, çoğunlukla izin verilen maksimum dozun altındadır. Avrupa Birliği Yiyecek ve İçecek Endüstrileri Federasyonu raporuna göre, yiyeceklerde rapor edilen maksimum tartrazin miktarı 10 ila 500 mg/kg, alkolsüz içeceklerde rapor edilen maksimum tartrazin miktarı 1 ila 20 mg/L, alkollü içeceklerde rapor edilen maksimum tartrazin miktarı ise 0 ila 100 mg/L'dir (EFSA, 2009). İzin verilen maksimum dozlar ve rapor edilen maksimum dozlara ilişkin özet bilgi Çizelge 1.4'te verilmiştir.

Çizelge 1.4. Yiyecek ve içeceklerde maksimum izin verilen ve rapor edilen tartrazin miktarları (EFSA, 2009)

	Maksimum izin verilen miktarlar (mg/L veya mg/kg)	Maksimum rapor edilen miktarlar (mg/L veya mg/kg)
İçecekler		
Aromalı alkolsüz içecekler	100	20
Amerikano		100
Soda		100
Sıvı gıda takviyeleri/diyet entegratörleri		50
Alkollü içecekler	200	100
Aromalandırılmış şaraplar, aromalandırılmış, şarap temelli içecekler, aromalandırılmış, şarap temelli kokteyller		200
Meyve şarapları, elma şarabı, armut şarabı		1
Yiyecekler		
Günlük gıda alımını veya tek bir öğünü tamamlamayı amaçlayan kilo kontrolüne yönelik formulalar	50	50
Tıbbi gözetim altında kullanılan formullar ve besin takviyeleri		
Çorbalar		
Çeşnili işlenmiş peynirler	100	30
Balık ve diğer kabuklu deniz ürünlerinin ezmeleri		100
Tütsülenmiş balık		100
Tuzlu atıştırmalık ürünler ve tuzlu kaplamalı kuruyemişler		50
Bitkisel proteine dayalı et ve balık analogları		100
İşlenmiş bezelye püresi (konserve)		50
Yenilebilir buzlar	150	20
Aromalı süt ürünleri de dahil tatlılar		10
Unlu mamuller	200	30
Şekerlenmiş meyve ve sebzeler		50
Kırmızı meyve konserveleri		50
Çekilmiş tuzlu atıştırmalık ürünler		50
Pişırmeye hazır kabuklu deniz ürünleri	250	250
Şekerlemeler	300	220
Hardal		300
Balık yumurtası		300
Katı gıda takviyeleri/diyet entegratörleri		50
Dekorasyon ve kaplama ürünleri	500	180
Soslar, çeşniler, turşular, Hint turşusu		425
Somon ikameleri		500
Surimi		500
Yenilebilir peynir kabuğu ve yenilebilir kılıflar	Quantum satis	30

Tartrazin daha önce, Avrupa Birliği Bilimsel Gıda Komitesi (SCF) tarafından 1975 ve 1984 yıllarında ve JECFA tarafından 1966 yılında değerlendirilmiştir. Her iki komite, tartrazin için 0-7,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün ADI dozu belirlemiştir. İki bin dokuz yılında EFSA tarafından yapılan yeniden değerlendirmede de ADI olarak 7,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün düzeyinin kullanılmaya devam edilmesi uygun görülmüştür. Bu değerlendirme raporunda sunulan verilere göre, AB ülkelerinde diyetle tahmini tartrazin alım düzeyinin, besin tüketim kayıtlarını esas alan hesaplama yöntemlerine göre ADI dozunun altında kaldığı bildirilmiştir. Maksimum izin verilen dozlar kullanılarak tahmini tüketim üzerinden hesap edilen ham tüketim tahminine göre, yetişkinlerde tartrazin alımı 8,1 mg/kg vücut ağırlığı/gün, 18 yaş altı bireylerde ise 13,1 mg/kg vücut ağırlığı/güne denk gelmektedir. AB ülkelerinde daha önceden yapılan besin tüketim araştırmalarının verileriyle, tartrazin için belirlenen maksimum izin verilen dozlar kullanılarak yapılan hesaba göre, yetişkinlerde ortalama tartrazin alımı 0,9 mg/kg vücut ağırlığı/gün, 1-10 yaş arası çocuklarda ise ortalama 0,8-3,4 mg/kg vücut ağırlığı/gün düzeyindedir. Bu hesaplama yöntemine göre yetişkinlerde, 95. persentil için tüketim miktarı 2,1 mg/kg vücut ağırlığı/güne, çocuklarda ise 0,8-9,4 mg/kg vücut ağırlığı/güne çıkabilmektedir. Besin tüketim araştırmalarının verileriyle, tartrazin için maksimum rapor edilen dozlar kullanılarak yapılan hesaba göre ise yetişkinlerde ortalama tartrazin alımı 0,3 mg/kg vücut ağırlığı/gün, 1-10 yaş arası çocuklarda ise ortalama 0,2-1,9 mg/kg vücut ağırlığı/gün düzeyindedir. Yetişkinlerde, 95. persentil için tüketim miktarı 0,5 mg/kg vücut ağırlığı/güne, çocuklarda ise 0,4-7,3 mg/kg vücut ağırlığı/güne çıkabilmektedir. Besinlerde rapor edilen maksimum tartrazin dozları dikkate alınarak hesaplama yapıldığında, diyetteki en yaygın tartrazin kaynakları sırası ile alkolsüz içecekler (%11 ila 38), soslar, baharatlar (örn. köri tozu, tandır), turşular, çeşniler, Hint turşusu (%10 ila 75), şekerlemeler ve unlu mamuller (örn. bisküvi, kek, gofret) (%12 ila 32) olarak rapor edilmiştir. Aromalı süt ürünleri de dahil olmak üzere tatlılar, 4 ülkede toplam maruziyetin %14 ila 26'sını, surimi ise 3 ülkede toplam maruziyetin %11 ila 17'sini oluşturmuştur (EFSA, 2009).

Tartrazinin besinlerde yasal düzenlemeler çerçevesinde kullanımının haricinde, Avrupa Komisyonu Gıda ve Yem Hızlı Uyarı Sistemi'ne (Rapid Alert System for Food and Feed - RASFF) bildirilen yasadışı kullanım verileri de mevcuttur. Buna göre veriler, 2004 – 2022 yılları içerisinde yapılan toplam 172 tespit, 43 adet izin verilenden fazla, 129 adet ise izinsiz veya bildirilmemiş tartrazin kullanımına işaret etmektedir. Her ne kadar RASFF, yapılan bildirimlere müteakip, hızlıca aksiyon alarak ilgili ürünler için gerekli düzenlemeleri gerçekleştirirse de, yıllar içinde yapılan bildirimler, yasa dışı kullanımla birlikte tartrazin maruziyetinin, tahmin edilenin üzerinde olabileceğine işaret etmektedir (RASFF, 2021, 2023).

Ülkemizde ise, tartrazin maruziyetine ilişkin bir çalışma bulunmamaktadır ve bu alanda yapılacak güncel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

1.2.3.1. Vücutta Tartrazin Metabolizması

Oral yolla vücuda alınan tartrazinin emilimi ihmal edilebilir derecede düşüktür (<%5) ve ağırlıklı olarak idrarla değişmeden atılır. Oral alım sonrası tartrazin, gastrointestinal mikrobiyotik tarafından sülfanilik asit ve aminopirazalona metabolize edilir. Aminopirazalon daha sonra sülfanilik asit ve α -amino- β -ketobütirik asite kadar parçalanabilir. Tartrazine kıyasla, hem sülfanilik asitin hem de aminopirazalonun, büyük kısmı geri emilebilir. Sıçan ve insan çalışmaları, tartrazin ve metabolitlerinin geri emilim ve idrarla atım yüzdelerinin, bu iki tür için benzer olduğuna işaret etmektedir. Bu veriler tartrazin araştırmalarında, sıçanın insan için uygun bir metabolik model olduğunu ve sıçanlardaki kapsamlı metabolizma göz önüne alındığında, mikrobiyotik metabolitlere maruziyetin insan ile benzer düzeyde olabileceğini göstermektedir (EFSA, 2009).

1.2.3.2. Tartrazinle İlişkilendirilen Sağlık Sorunları

EFSA tarafından 2009 yılında yayımlanan ve bu tarihe kadar tartrazin ve sağlık etkileri üzerine yapılan çalışmaları derleyen yeniden değerlendirme raporuna göre, 0-7,5 mg/kg vücut ağırlığı ADI dozunda tartrazin tüketiminin sağlık üzerinde olumsuz bir etki yaratmayacağı belirtilmiştir (EFSA, 2009). Bu tarihten sonra yayımlanan çalışmalar da genellikle diyetle alımın üzerine çıkan yüksek doz tüketimin sağlık riskleri üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu bağlamda, yüksek miktarda tartrazin tüketimiyle ilişkilendirilen risklerden biri, tartrazinin östrojen reseptörlerini aktive etme (ksenoöstrojen) kabiliyetinden ileri gelmektedir. Östrojenin kolestatik etkisi sebebiyle, tartrazinin kronik alımının, postmenopozal kadınlarda, primer biliyer siroz riskini artırabileceğinden şüphelenilmektedir (Axon vd., 2012). Ancak, bu maruziyet seviyesine, sadece besin tüketimi ile ulaşılması olası değildir.

Tartrazinle ilgili en sık bildirilen sağlık risklerinden bir diğeri de tartrazinin DNA'ya yüksek bağlanma kapasitesiyle ilişkilendirilmektedir. DNA'ya bağlanma kapasitesine yönelik girdi sağlayan Kardeş Kromatid Değişimleri Analizi, Proliferasyon Hızı İndeksi ve Mitotik İndeks'in değerlendirildiği hücre çalışmaları, tartrazinin insan lenfositlerine zarar verme ve doğrudan DNA'ya bağlanma (sitotoksik etki) yeteneği nedeni ile toksik potansiyeli olabileceğini vurgulamaktadır (Mpountoukas vd., 2010). Bununla birlikte tartrazinin, ancak

0,25 ila 64,0 mM dozlarında genotoksisiteye sebep olabileceği bildirilmiştir (Soares vd., 2015). Bu veriler, tartrazinin çok yüksek dozlarda veya kümülatif maruziyette karsinogenezi tetikleyebileceğine işaret etmektedir. Yine de, bu durumla karşılaşılması pek olası değildir.

Tartrazinin insan ve sığır serum albüminine bağlanma ve bu proteinlerle bir kompleks oluşturma yeteneğine sahip olduğunu ve potansiyel olarak fizyolojik işlevlerini sınırladığını gösteren raporlar da mevcuttur (Masone ve Chanforan, 2015). Ancak, tartrazinin emilim oranının çok düşük olması (<%5) sebebiyle, in vivo düzeyde bu bağlanma, muhtemelen önemli bir rol oynamamaktadır. Bununla birlikte, yüksek maruziyet durumunda veya tartrazinin, plazma proteinlerine bağlanabilen diğer renklendiriciler veya ilaçlarla birlikte kullanımı halinde bu etki, kayda değer olabilir.

Yüksek dozda tartrazin maruziyetiyle ilişkili bildirilen bir diğer sağlık riski ise nörotoksisitedir. Otuz gün boyunca 125-500 mg/kg doz aralığında uygulanan tartrazinin, hem farelerde hem de sıçanlarda doza bağlı bir şekilde nörotoksisiteye ve öğrenme ve hafızada eksikliklere neden olabileceği bildirilmiştir. Histopatolojik incelemelerin sonuçları, bu sağlık risklerinin, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış ile endojen antioksidan enzimlerin inhibisyonuna atfedilebileceğini vurgulamaktadır (Gao vd., 2011). Bununla birlikte, insanlarda 125-500 mg/kg aralığındaki bir dozun diyetle alınma olasılığı çok düşüktür.

Tartrazinin de içinde bulunduğu renklendiriciler grubunun, DEHB gelişimiyle de ilişkilendirilebileceğine dair birtakım veriler paylaşılmıştır (Vojdani ve Vojdani, 2015). Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, DEHB ve renklendiriciler arasındaki ilişkiye yönelik net bir kanıt sunulmamış, ancak belirli grupların, besinlerdeki renklendiricilere karşı daha hassas olabileceği bildirilmiştir (Schab ve Trinh, 2004). İki bin yedi yılında yapılan geniş ölçekli bir klinik çalışmada ise, farklı sentetik renklendiricileri bir arada içeren iki farklı karışımının (1- Sunset Yellow, Azorubin, Tartrazine, Ponso 4R ve 2- Sunset Yellow, Azorubin, Kinolin sarısı, Allura Red) çocuklarda DEHB gelişimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Renklendirici dozları, üç yaş grubu çocuklar için 56 g'lık bir poşet şekerde bulunabilecek miktar ve 8-9 yaş grubu çocuklar için iki poşet şekerde bulunabilecek miktara benzer olacak şekilde belirlenmiştir. Sonuçlar, renklendirici alımı ile DEHB gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki rapor etmiştir (McCann vd., 2007). Ancak EFSA Paneli tarafından yayımlanan raporda da belirtildiği üzere, çalışmada tüm renklendiricilerin bir arada incelenmesi; DEHB tanımlanmasında kullanılan yöntemin geçerliliğinin doğrulanmamış

olması; örneklem büyüklüğünün küçük olması; doz ve etki arasındaki ilişki hakkında bilgi yer almaması ve renklendiricilerin tüketimine bağlı davranış değişikliklerinin indüklenmesinde olası biyolojik mekanizmaya dair bir önerinin mevcut olmaması gibi sınırlılıklardan ötürü, tartrazin için ADI'nın revize edilmesine gerek olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2009). Daha güncel bir meta analizde de, yine yetersiz sayıda denekten elde edilen değişken sonuçlar nedeni ile DEHB ve renklendiriciler arasındaki ilişkiye yönelik yeterince güçlü bir kanıt sunulmamakla birlikte, DEHB'li çocukların yaklaşık %8'inin diyetindeki renklendirici miktarını sınırlandırması durumunda klinik sonuçlarının iyileştiği bildirilmiştir (Nigg vd., 2012). Bu verilere dayanarak, FDA, ilgili çalışmaların detaylandırılması ve bu fenomenin alt gruplarda ayrıntılı analizinin yapılmasının gerekli olduğunu düşünmektedir (Cheeseman, 2012).

Son olarak, net bir biyolojik mekanizma ortaya konulamamasına karşın tartrazinin, duyarlı bireylerde ürtiker, astım ve gastrointestinal rahatsızlıklarla ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir (Elhkim vd., 2007). Bazı hassas gruplarda, tartrazin kullanımı, düşük bir oranda da olsa ürtiker, atopik dermatit veya hiperkinezi ile sonuçlanmıştır (Nettis vd., 2003). Bununla birlikte, astımı olan bireylerde tartrazin alımıyla birlikte astım semptomlarının açığa çıkması arasında pozitif bir ilişki olabileceği rapor edilmiştir. Ancak, diyetten tartrazinin çıkarılması, hastalarda astımla ilgili pozitif bir gelişme sağlamamıştır (Ardern vd., 2009).

Bildirilen tüm bu sağlık risklerinden (alerji, astım, deri döküntüleri, hiperaktivite ve migren) ötürü, tartrazinin Norveç ve Avusturya'da kullanımı kısıtlanmıştır (Ramesh ve Muthuraman, 2018). Diğer Avrupa Birliği üyesi ülkeler ve Amerika'da ise tartrazin kullanımının kısıtlanmasına ilişkin yasal bir mevzuat bulunmamaktadır.

1.2.3.3. Tartrazin ve Bağırsak Mikrobiyotası Arasındaki İlişki

Bilindiği kadarı ile güncel literatürde, tartrazin ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi değerlendiren yalnızca bir çalışma mevcuttur. Sıfır, 1,4 mg/kg-vücut ağırlığı/gün, 5,5 mg/kg-vücut ağırlığı/gün ve 10 mg/kg-vücut ağırlığı/gün tartrazin alan sazan balıklarının dışkı örnekleri kullanılarak yapılan analizin sonuçlarına göre, tartrazin tüketimi, bağırsak mikrobiyotasında şube ve sınıf düzeyinde birtakım değişikliklere sebep olabilmektedir. Buna göre, tartrazin tüketimi, şube bazında *Proteobacteria* ve *Actinobacteriota*'da anlamlı bir artışla ilişkilendirilirken; *Planctomycetota* ve *Fusobacteriota*'da ise önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, tartrazin alan gruplarda bazı probiyotiklerin (örn. *Roseomonas*, *Rhodococcus* ve *Bacillus*) nispi oranı azalırken, bazı patojen mikroorganizmaların (örn.

Bdellovibrio ve *Shewanella*) nispi oranında önemli bir artış meydana gelmiştir. Ek olarak, SCFA üreten bakterilerin (*Bacteroides* ve *Clostridium_sensu_stricto_1*) nispi oranı, tartrazin tüketimi ile birlikte önemli ölçüde azalmıştır (Wu vd., 2021).

Wu ve arkadaşlarının çalışması (2021), tartrazinin, ADI dozuna benzer düşük dozlarda dahi bağırsak mikrobiyotasında disbiyozise sebep olabileceğine işaret etmektedir. Tartrazinin, çoğunlukla bağırsak mikrobiyotasındaki bakterilerce metabolize edilmesi sebebiyle, mikrobiyota üzerinde farklılık yaratması, beklenen bir etkidir. Sazan balıklarında yapılan çalışma da bu hipotezi doğrulamaktadır. Ancak, insanlarda tartrazinin bağırsak mikrobiyotası üzerinde nasıl bir etki yarattığı henüz bilinmemektedir.

Yukarıda belirtilen literatür incelemesi ışığında, pubertal dönemde tartrazinin mikrobiyotada yarattığı etki henüz aydınlatılmamış bir konudur. Bu tez araştırması kapsamında, insana en yakın metabolik modellerden biri olarak kabul edilen sıçanlarda, peripubertal dönemden yetişkin çağına kadar ADI dozunda tartrazin alımının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Elde edilecek sonuçlar ile tartrazin alımıyla birlikte mikrobiyotada meydana gelen değişiklikler ve ilişkili olabilecek hastalıkların tanımlanmasına yönelik ileride yapılacak araştırmaların önünün açılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Erken dönemde tartrazine maruziyetin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini incelemek üzere, 16 erkek, 16 dişi toplam 32 adet 6 haftalık Wistar Albino sıçan, Şubat 2023'te Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından temin edilmiş ve deney süresi boyunca (12 hafta) hayvanlar aynı laboratuvarda takip edilmiştir. Hayvanlardan alınan numuneler, analiz gününe kadar muhafaza edilmek üzere Atılım Üniversitesi'ne taşınmış ve Mart 2023 – Haziran 2023 tarihleri arasında Atılım Üniversitesi'nde analiz edilmiştir.

Çalışma örnekleminin seçiminde aşağıdaki faktörler göz önünde bulundurulmuştur;

1) *Tür seçimi*: İnsana en yakın metabolik modellerden biri olarak kabul edilmesi, takibinin kolay olması ve dışkılama sıklığının fazla olması sebebiyle çalışma, sıçanlar üzerinde tasarlanmıştır.

2) *Cinsiyet seçimi*: Beslenme düzenleri arasında araştırmanın sonuçlarını etkileyecek bir fark oluşturmaması sebebiyle dişi ve erkek sıçanların çalışma kapsamında birlikte incelenmesi uygun görülmüştür. Bununla birlikte, cinsiyet hormonlarının mikrobiyota üzerine olası etkilerini elimine edebilmek amacıyla cinsiyete özgü değerlendirme, ayrıca yapılmıştır (Kim vd., 2020).

3) *Yaş aralığı*: İnsanlarda, anne sütünden tamamen kesilmeyle birlikte, çoğu tartrazin içeren hazır gıda (alkolsüz içecekler, cips, hazır puding, bal, turşu, sakız, hardal, jelatin ve fırınlanmış ürünler vb.) diyet örüntüsüne dahil olabilmektedir. Adolesan dönemle birlikte ise çoğu işlenmiş besin, toplam enerji alımının önemli paydaşlarından biri haline gelebilmektedir (Costa vd., 2018). Sıçanlarda adolesan döneme denk gelecek bir yaş aralığı (6 hafta) seçilerek (Sengupta, 2013), maruziyetin, yaşam dönemi boyunca insanlarla özdeş dönemlere denk getirilmesi hedeflenmiştir.

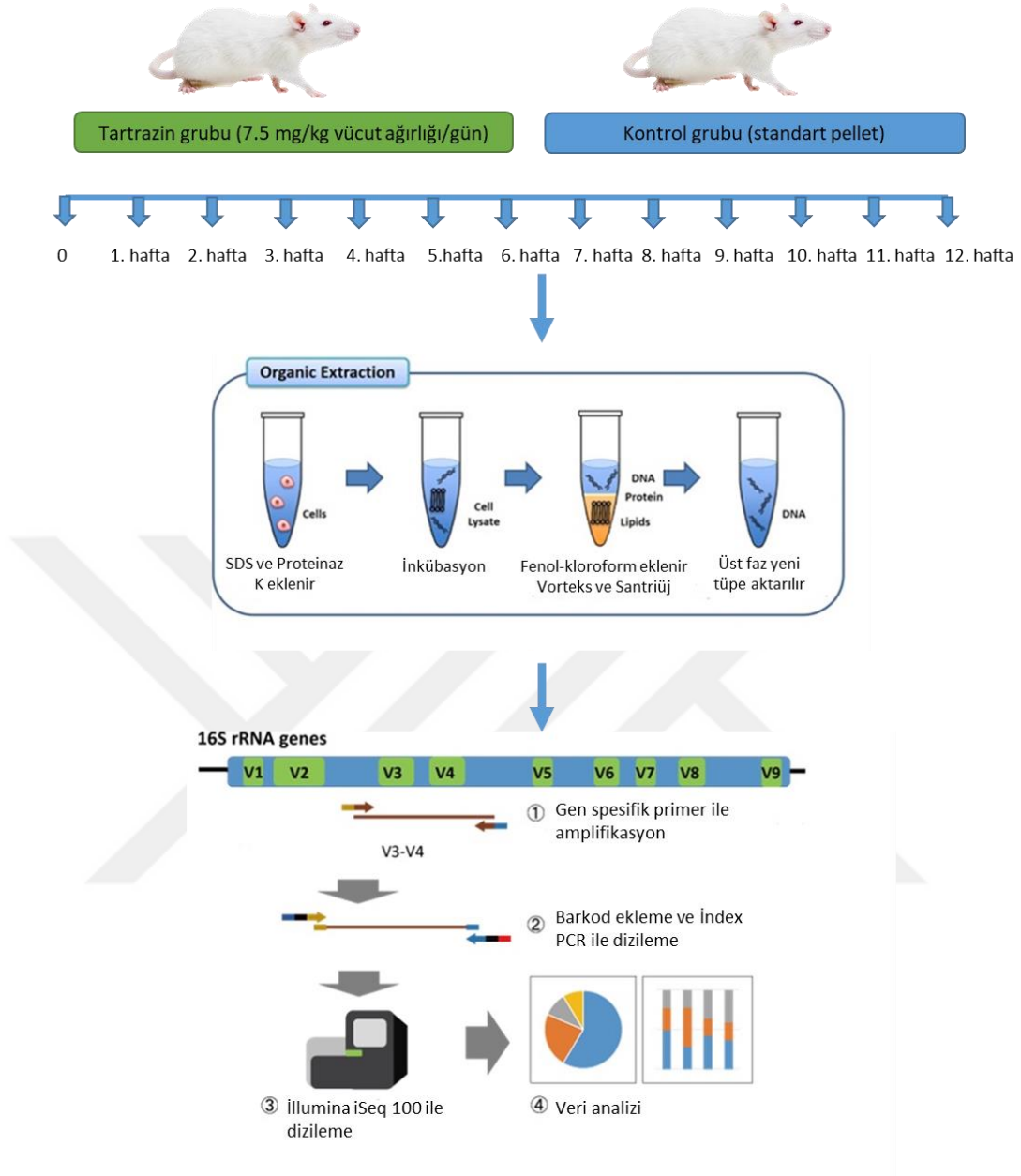
4) *Hayvan sayısı*: Deney süresinin uzunluğu ve yapılacak müdahalenin hayvanların sağlığı üzerine olası olumsuz etkileri göz önünde bulundurularak benzer dizayna sahip başka bir çalışma örneği ışığında (El-Desoky vd., 2017) hayvan sayısının kontrol ve müdahale grupları için 16'şar hayvandan (müdahale grubu için 8 erkek, 8 dişi; kontrol grubu için 8 erkek, 8 dişi) toplam 32 olmasına karar verilmiştir.

2.2. Araştırmanın Genel Planı

Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından temin edilen 6 haftalık 32 adet Wistar albino sıçan, müdahale ve kontrol grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Müdahale grubunun içme suyuna, kontrol grubundan farklı olarak ADI düzeyinde (7,5 mg/kg vücut ağırlığı/gün) tartrazin ilave edilmiştir. Başlangıç noktasında (T0) kuyruk boyama yöntemiyle bireysel olarak tanımlanan sıçanlardan, T0 anında ve takip eden 12 hafta boyunca, haftanın aynı gününe denk gelecek şekilde dışkı örnekleri toplanmıştır.

Fekal mikrobiyota kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla öncelikle sıçanlardan toplanan numunelerde, DNA ekstraksiyon prosedürü uygulanarak dışkı örneklerindeki bakteri hücreleri parçalanmış ve DNA izole edilmiştir. Sonrasında ise Illumina 16S Metagenomik dizileme kitiyle hazırlama kılavuzunda belirtilen basamaklar takip edilerek, bakterilerin, sıklıkla filogenetik sınıflandırmada kullanılan V3/V4 ribozomal RNA bölgesi dizilenmiştir (Illumina Inc, 2013). Elde edilen veriler, 16S Metagenomik analizi basespace Sürüm: 1.1.0 yazılımı (Illumina) kullanılarak analiz edilmiştir. Araştırma planına ilişkin akış şeması Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

Araştırma örnekleme, yeri ve planı Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 13.04.2022 tarihli ve 2022-8-80 sayılı kararıyla (Ek 1) onaylanmıştır. Çalışma planının öngörülen tarihten daha ileri bir tarihte başlaması nedeni ile aynı etik kurula tekrar başvuru yapılarak uzatma talebinde bulunulmuş ve etik kurulun 05.04.2023 tarihli ve 2023-7-63 sayılı kararıyla (Ek 2) çalışma süresi uzatılmıştır.



Şekil 2.1. Araştırma planına ilişkin akış şeması

2.3. Verilerin Toplanması ve Değerlendirilmesi

Verilerin toplanması ve değerlendirilmesine ilişkin prosedürler aşağıdaki alt bölümlerde detaylandırılmıştır.

2.3.1. Sıçanların Büyütülmesi, Diyet Uygulanması, Dışkı Örneklerinin Toplanması, Hayvanların Sakrifiye Edilmesi ve Doku Örneklerinin Alınması

Altı haftalıkken alınan sıçanlar, 12 hafta süresince yaklaşık %60 bağıl nem 12 saat karanlık/aydınlık döngüsü ile 22°C’de takip edilmiştir. Hayvanlar başlangıçta sekizerli olarak toplam dört kafese (kontrol-dişi, kontrol-erkek, müdahale-dişi, müdahale-erkek) dağıtılmıştır. Hayvanların ayırt edilebilmesine olanak sağlamak amacıyla her hayvanın kuyruğu, siyah, mavi ve kırmızı kalemler kullanılarak farklı sayıda halkalarla işaretlenmiştir. Deneyin dördüncü haftasından itibaren, hayvanların büyümesi ve her hayvan için kafeste yeterli alan kalmaması gerekçesiyle, tüm kafeslerde dört hayvan olacak şekilde kafesler ikiye ayrılmış ve hayvanlar 4 kontrol, 4 müdahale olmak üzere toplam sekiz kafeste takip edilmiştir.

Tüm hayvanlar, standart pellet diyeti ile beslenmiş, müdahale grubunun sularına kontrol grubundan farklı olarak günlük 7,5 mg/kg vücut ağırlığına denk gelecek miktarda tartrazin ilave edilmiştir. Hayvanlara su ve yem ad libitum sunulmuş, içme suları günlük olarak yenilenmiştir. Günlük su değişimleri esnasında her kafesin suluğunda kalan artık sular, kafeslere özel hazırlanmış ayrı bidonlarda biriktirilmiştir (Şekil 2.2). Hayvanların ortalama su tüketimleri kafeslere özel bidonlarda biriken suların haftalık olarak ölçülmesiyle takip edilmiştir.



Şekil 2.2. Kafeslere özel hazırlanan atık su bidonları

Tüm hayvanların vücut ağırlıkları haftalık olarak takip edilmiştir. Vücut ağırlığı ölçümleri, başlangıç noktasında ve 12 hafta boyunca her hafta, haftanın aynı gününe denk gelecek şekilde dışkı örneklerinin alınmasını takiben yapılmıştır. Her kafesin haftalık ortalama vücut ağırlığı verisi hesaplanmış ve haftalık su tüketim verileriyle birlikte değerlendirilerek,

her hafta kafeslere verilecek tartrazin miktarı ortalama 7,5 mg/kg vücut ağırlığı ADI düzeyine denk gelecek şekilde yeniden hesaplanmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Hayvanların haftalık vücut ağırlığı, su tüketimi ve tartrazin alımlarına ilişkin veriler

KAFES	HAFTA	Sıçanların Ortalama Vücut Ağırlığı (kg)	1 Sıçanın Günlük Ortalama Su Tüketimi (mL)	1 Sıçana Verilen Günlük Ortalama Tartrazin Miktarı (mg)	Tartrazin dozu (mg/kg vücut ağırlığı)
Tartrazin - Dişi	1. HAFTA	0,084	29,25	0,55	6,53
Tartrazin - Erkek		0,089	31,75	0,60	6,69
Tartrazin - Dişi	2. HAFTA	0,103	34,875	0,65	6,35
Tartrazin - Erkek		0,115	38,25	0,72	6,24
Tartrazin - Dişi	3. HAFTA	0,123	33,875	0,79	6,43
Tartrazin - Erkek		0,138	38,25	0,89	6,47
Tartrazin - Dişi	4. HAFTA	0,141	38,875	1,04	7,35
Tartrazin - Erkek		0,167	42	1,12	6,71
Tartrazin - Dişi	5. HAFTA	0,154	38,375	1,15	7,48
Tartrazin - Erkek		0,19	44,625	1,34	7,05
Tartrazin - Dişi	6. HAFTA	0,17	37,375	1,25	7,33
Tartrazin - Erkek		0,212	45,5	1,70	8,01
Tartrazin - Dişi	7. HAFTA	0,1825	33,75	1,17	6,41
Tartrazin - Erkek		0,235	42,8	1,60	6,80
Tartrazin - Dişi	8. HAFTA	0,1915	37,5	1,50	7,83
Tartrazin - Erkek		0,254	45,86	1,93	7,58
Tartrazin - Dişi	9. HAFTA	0,202	41,25	1,93	9,53
Tartrazin - Erkek		0,267	44,43	2,22	8,32
Tartrazin - Dişi	10. HAFTA	0,211	38,375	2,05	9,70
Tartrazin - Erkek		0,274	46,29	2,62	9,57
Tartrazin - Dişi	11. HAFTA	0,217	37,5	1,75	8,06
Tartrazin - Erkek		0,283	45,14	2,41	8,51
Tartrazin - Dişi	12. HAFTA	0,22	42	1,96	8,91
Tartrazin - Erkek		0,29	52	2,60	8,97
Tartrazin - Dişi	Kesim Öncesi	0,228		Ort. tartrazin dozu	7,66
Tartrazin - Erkek		0,301		Ort. tartrazin dozu	7,58

Başlangıç noktasında ve takip eden haftalar boyunca toplamda 13 kez, haftada bir gün, tüm hayvanlardan dışkı örnekleri toplanmıştır. Dışkı örnekleri, hayvanlar uygun tutma pozisyonunda iken direk anüsten alınarak, önceden sterilize edilmiş 2 mL'lik Eppendorf tüplerde toplanmıştır (Şekil 2.3). Dışkı örnekleri toplandıktan sonra tüpler, buz aküleri ile strafor kaplar içerisinde Atılım Üniversitesi'ne transfer edilerek analiz gününe kadar saklanmak üzere -80°C'ye kaldırılmıştır.



Şekil 2.3. Dışkı örneklerinin toplaması

Deney süresinin sonunda, hayvanlar anestezi ajan (ketamin + ksilazin) etkisi altında uyuşturularak ve cerrahi sırasında ekssanguinasyon işlemiyle sakrifiye edilmiştir.

2.3.2. Dışkı Örneklerinden DNA İzolasyonu

Toplanan dışkı örnekleri içerisinde başlangıç (T0), 1. hafta (T1), 2. hafta (T2), 4. hafta (T4), 8. hafta (T8) ve 12. haftaya (T12) ait numunelerden her kafesi temsilen birer erkek ve dişi hayvanın örnekleri seçilerek (aynı hayvanların altı farklı zaman dilimindeki örnekleri kullanılacak şekilde) organik metotla DNA ekstraksiyon prosedürü (Liu vd., 2004) uygulanmıştır. Prosedür uyarınca, tüm örnekler 500 µL 4mg/mL lizozim içeren 1xTE solüsyonu eklenmiş ve örnekler, 37°C'lik su banyosunda bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriler, lizozimle 16-18 saat boyunca parçalandıktan sonra tüplere, 10 mL 10 mg/mL proteinaz K/dH₂O ve 250 µL%10 SDS eklenmiş ve tüpler, 56°C'lik su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İki saatin sonunda, her tüpe, protein ve yağ moleküllerini degrade edebilmek amacıyla 1:1 hacme eşdeğer (yaklaşık 750µL) 25:25 fenol:kloroform çözeltisi ilave edilerek, tüpler 15-20 kez ters-düz edilmiştir. Örnekler, 14000rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra, DNA'yı içeren en üstteki sulu faz, yeni steril tüplere aktarılmıştır. Sulu fazdaki DNA'yı çöktürmek amacıyla, her tüpe 150 µL 5M NaCl, pipetlenerek ilave edilmiş ve 1:1 hacme eşdeğer 2-propanolle karıştırılarak 14000rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlem ile DNA, pellet olarak çöktürülmüş ve sonrasında süpernatant kısmı atılmıştır. Çöktürülen DNA örnekleri, daha sonra, safsızlıklarından arındırılmak amacıyla iki sefer 750 µL %70'lik soğuk etanol ile yıkanmış ve 14000rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi sonrasında, alkol içeren süpernatant atılmış ve örnekler tamamen kurutulmak üzere 15-

20 dakika 55°C'lik etüve konulmuştur. Tamamen kuruyan DNA örneklerine 50 µL ultra saf su ilave edilmiş ve örneklerin su içinde tamamen çözünebilmesi adına tüpler, yaklaşık 10 dakika 55°C'lik etüvde bekletilmiş ve sonrasında QuickSpinn cihazında 2-3 saniye döndürülmüştür.

İzole haldeki DNA örneklerinde, ng/µL cinsinden miktar tayin edebilmek amacıyla Nanodrop cihazı kullanılmıştır. Tüm numunelerdeki DNA konsantrasyonları, yeni nesil dizilime analizlerinde kullanılabilme üzere, 5 ng/µL'ye kadar ultra saf su ile dilüe edilmiştir.

2.3.3. Yeni Nesil Dizileme Tekniği ile Dışkı Örneklerindeki Bakteri Kompozisyonunun Belirlenmesi

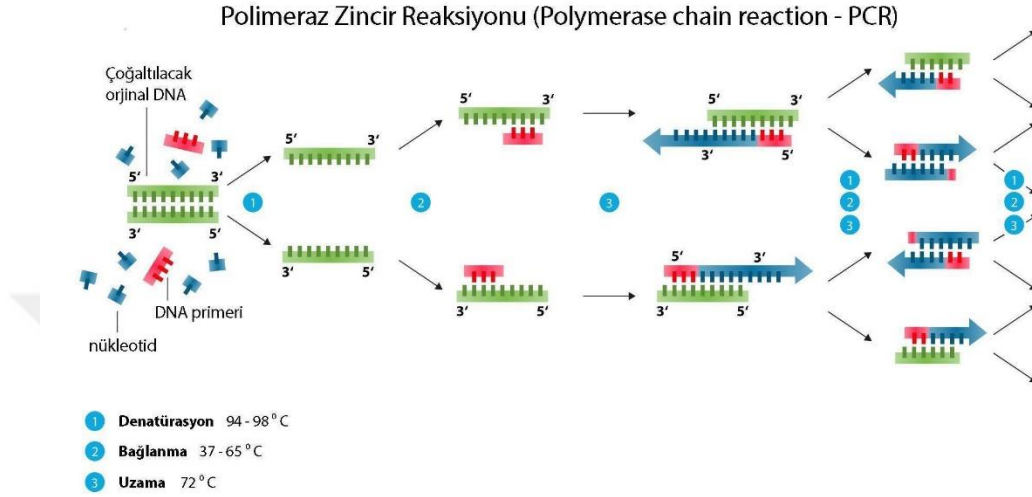
Bakteri topluluklarını tanımlamak için NGS yöntemi daha önce yayınlandığı şekilde kullanılmıştır (Ersoy Omeroglu vd., 2021). 16S metabar kodlama kitaplığının hazırlanması, Parça No. 15044223 Rev. B (Illumina Inc, 2013) dokümanında açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu sonunda, konsantrasyonu 5ng/µL'ye kadar seyreltilen DNA örneklerinde, Illumina 16S Metagenomik dizileme kitaplığı hazırlama kılavuzundaki basamaklar takip edilerek, sırası ile 1) *Amplikon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)*, 2) *PCR Clean-Up*, 3) *Index PCR*, 4) *PCR Clean-Up 2* ve 5) *Illumina iSeq100 ile dizileme* prosedürleri yürütülmüştür (Illumina Inc, 2013).

1) *Amplikon PCR*: İzole DNA örneklerinde 16S V3/V4 ribozomal RNA gen bölgesini çoğaltmak üzere;

- F-primer
5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNG
GCWGCAG-3' ve
- R-primer
5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVG
GGTATCTAATCC-3' adaptör dizi primerleri kullanılmıştır.

2,5 µL 5ng/µL DNA; 12 µL 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix ve 5'er µL adaptör dizi primerleri ile steril tüplerde birleştirilerek Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PCR cihazında 95°C'de 3 dakika ön ısıtma işlemi sonrası 25 tekrar denatürasyon (95°C'de 30 saniye), bağlanma (55°C'de 30 saniye) ve primer uzaması (72°C'de 30 saniye) aşamaları ile amplifiye edilmiştir (Şekil 2.4).

Amplikon PCR prosedürü sonrası, DNA örneklerinin beklenen uzunluğa (≈550 baz çifti) ulaşip ulaşmadığı, agaroz jel elektroforezi analizi ile kontrol edilmiştir. Buna göre, DNA örnekleri, %1,5 konsantrasyondaki agaroz jelde, 100 volt akımda yürütülerek, miktarı bilinen referans DNA molekülü ile kıyaslanmıştır.



Şekil 2.4. PCR protokolünün görsel şeması

2) *PCR Clean-Up*: PCR sonrası 16S V3/V4 amplikonlarını serbest primer ve primer dimerlerinden arındırmak amacıyla, DNA, AMPure XP boncukları ile manyetik alanda çöktürülerek iki sefer %80'lik etanol ile yıkanmıştır.

3) *Index PCR*: 16S V3/V4 ribozomal gen bölgesi çoğaltılan örnekleri, Illumina özgün dizileme adaptörleriyle birleştirerek birbirinden ayırt edebilmek amacıyla, 5 µL DNA; 25 µl 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix, 10 µl ultra saf su, 5'er µL Nextera Index Primer 1 (N7xx) ve Nextera Index Primer 2 (S5xx) ile steril tüplerde birleştirilerek Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PCR cihazında 95°C'de 3 dakika ön ısıtma işlemi sonrası 8 tekrar denatürasyon (95°C'de 30 saniye), bağlanma (55°C'de 30 saniye) ve primer uzaması (72°C'de 30 saniye) aşamaları ile amplifiye edilmiştir.

Index PCR prosedürü sonrası, DNA örneklerinin beklenen uzunluğa (≈630 baz çifti) ulaşip ulaşmadığı, agaroz jel elektroforezi analizi ile kontrol edilmiştir. Buna göre, DNA örnekleri, %1,5 konsantrasyondaki agaroz jelde, 100 volt akımda yürütülerek, miktarı bilinen referans DNA molekülüyle kıyaslanmıştır.

4) *PCR Clean-Up 2*: Illumina iSeq100 ile dizileme öncesi, örnekleri, serbest primer ve primer dimerlerinden arındırmak amacıyla, DNA, AMPure XP boncukları ile manyetik alanda çöktürülerek iki sefer %80'lik etanol ile yıkanmıştır.

Son aşamadan önce, DNA örneklerinin uzunluğunu tekrar teyit etmek ve serbest primer ve primer dimerlerinin ortamdaki temizlendiğinden emin olabilmek adına tekrar agaroz jel elektroforezi analizi yürütülmüştür.

5) *Illumina iSeq100 ile dizileme*: Tüm örneklerden uygun hacimde çekilerek yeni bir tüpte birleştirilmiştir. Yeni bileşimin son konsantrasyonu, 35 pM olana kadar ultra saf su ile seyreltme işlemi yapılmıştır. Seyreltilmiş karma DNA çözeltisine, 10 µL PhiX ilave edildikten sonra, 20 µL PhiX - karma DNA karışımı, iSeq100 kartuşuna yüklenmiştir. Kartuş, üreticinin talimatlarına uygun şekilde cihaza takılmış ve sekanslama sonuçlarının alınabilmesi için yaklaşık 24 saat çalışır vaziyette bırakılmıştır.

2.4. Dizileme Sonuçlarının Biyoinformatik Analizi

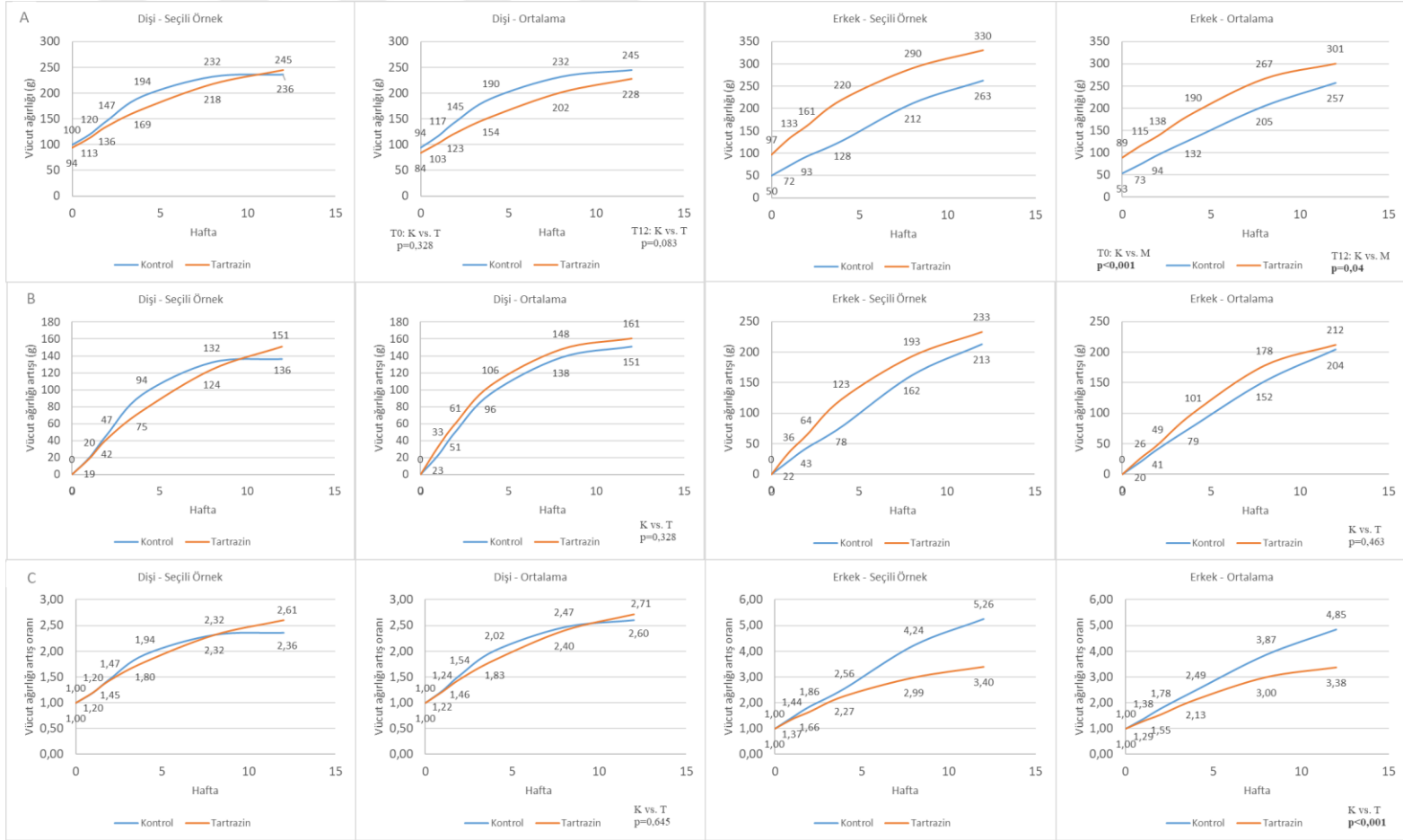
Elde edilen ileri ve ters diziler, şube ve aile düzeyinde Greengenes2023 veritabanı ile Basespace (Illumina inc) yazılımı kullanılarak operasyonel taksonomik birim (OTU) yaklaşımıyla analiz edilmiştir. Alfa çeşitliliğin hesaplanmasında kullanılan bakterilerin nispi oranları, her taksonomik basamak için bar grafikleri kullanılarak görselleştirilmiştir. Türler arasındaki çeşitliliğe yönelik sayısal bilgi sağlayan Shannon çeşitlilik indeksi (H), $[H = -\sum p_i * \ln(p_i)]^1$ formülü kullanılarak Microsoft Excel'de hesaplanmış (Ortiz-Burgos, 2016), değerler arasındaki istatistiksel fark Hutcheson t-testi ile belirlenmiştir (Hutcheson, 1970). Farklı numunelerdeki mikrobiyal yapıların benzerlik ve farklılıkları, temel bileşen ordinat analizi (PCoA) yöntemiyle, PAleontological STatistics (PAST) Yazılımı sürüm 4.06b paketi (2021) kullanılarak elde edilmiştir (Hammer vd., 2001).

¹ p_i = "i" türünün tüm bakteri türlerine oranı

3. BULGULAR

3.1. Sıçanlarda Deney Süresi (12 Hafta) Boyunca Ağırlık Değişiminin Değerlendirilmesi

Erkek ve dişi sıçanların deney süresi boyunca vücut ağırlıklarında meydana gelen değişimler Şekil 3.1’de özetlenmiştir. Buna göre, hem erkek hem dişi sıçan gruplarında, kafesleri temsilen seçilen sıçanların vücut ağırlığı değişimleri, kafes ortalamasına paralel ilerlemiştir. Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanlar, başlangıç noktasında yaklaşık 100 gram ağırlığında iken, deney sonunda yaklaşık 245 grama kadar çıkarak ağırlıklarının yaklaşık iki buçuk katına ulaşmışlardır. Erkeklerde ise müdahale grubunda başlangıç noktası ağırlığı yaklaşık 50 gram iken kontrol grubunda yaklaşık 100 gram olarak kaydedilmiştir. Deney sonunda müdahale grubu yaklaşık 300 grama ulaşarak başlangıç ağırlığını üçe katlarken, kontrol grubu yaklaşık 250 grama çıkarak başlangıç ağırlığının beş katına çıkmıştır. Verilere göre, tartrazin mühalesi dişi sıçanlarda vücut ağırlığı üzerinde potansiyel bir etki yaratmazken ($p=0,645$), erkek sıçanlarda ağırlık artış oranı üzerinde negatif bir etkiye sebep olmuştur ($p<0,001$).

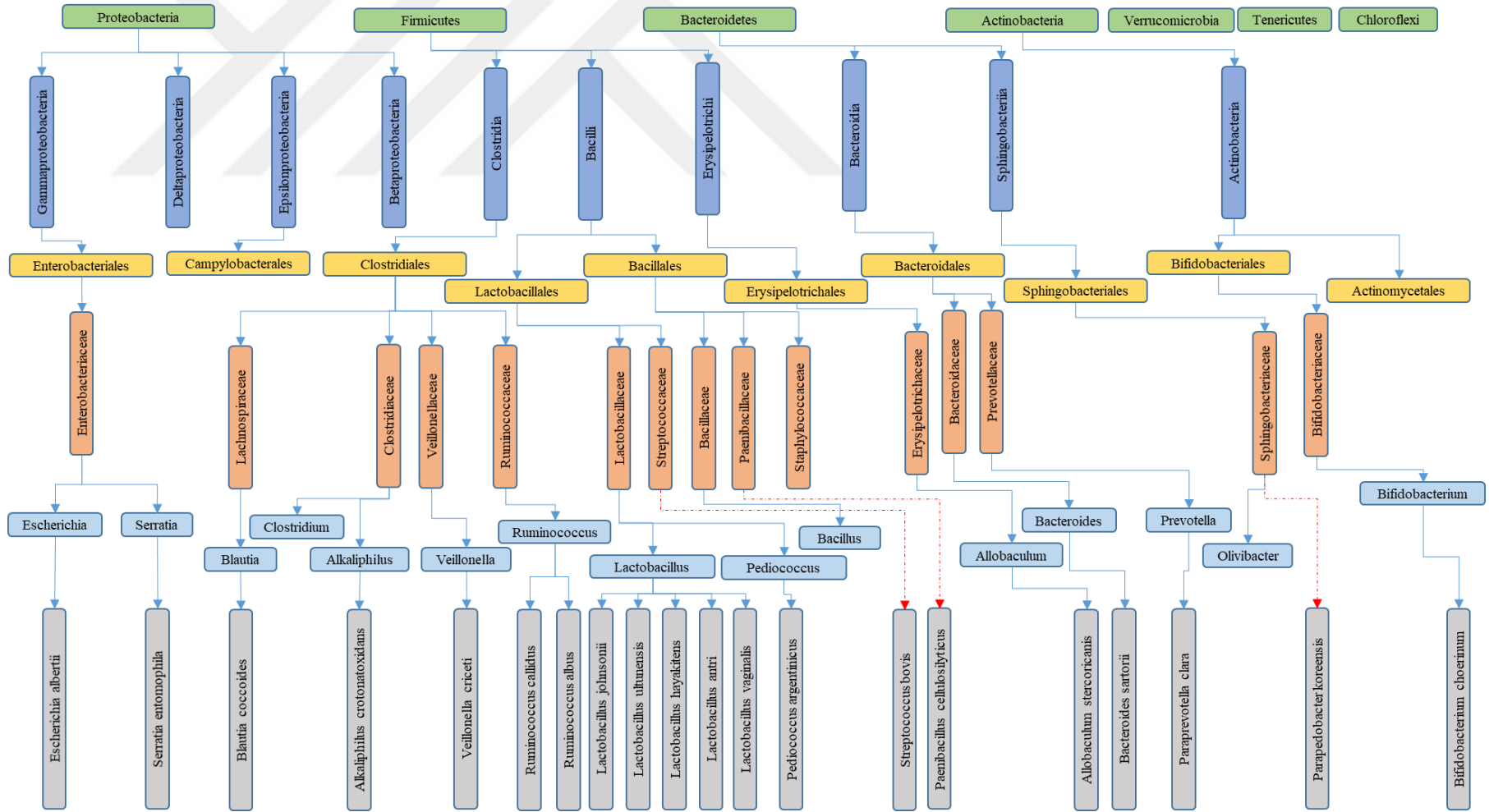


Şekil 3.1. Dişi ve erkek sıçanların deney başlangıcından sonuna kadar haftalara göre (A) vücut ağırlığı değişimleri, (B) vücut ağırlığı artışları, (C) vücut ağırlığı artışı oranları.

*Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

3.2. Sıçanlarda Deney Süresi Boyunca Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi

Erkek ve dişi sıçanlardan toplanan dışkı numunelerinden elde edilen verilere göre hayvanların bağırsak mikrobiyotasında başlangıç noktasından deney sonuna kadar en yaygın görülen filum, sınıf, takım, familya, cins ve türler, taksonomik sınıflandırmaya göre Şekil 3.2’de özetlenmiştir. Buna göre, gruplarda en yaygın görülen filumlar; *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Tenericutes* ve *Chloroflexi*’dir. En yaygın sınıflar; *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Actinobacteria*, *Erysipelotrichi*, *Sphingobacteriia*, *Deltaproteobacteria* ve *Betaproteobacteria*’dır. En yaygın takımlar; *Clostridiales*, *Enterobacteriales*, *Lactobacilliales*, *Bacteroidales*, *Bacilliales*, *Erysipelotrichales*, *Bifidobacteriales*, *Sphingobacteriales*, *Actinomycetales* ve *Campylobacteriales*’dir. En yaygın familyalar; *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Veillonellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Paenibacillaceae*, *Staphylococcaceae* ve *Streptococcaceae*’dir. En yaygın cinsler; *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Blautia*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Allobaculum*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Pediococcus*, *Alkaliphilus*, *Serratia*, *Olivibacter* ve *Bacillus*’tur. En yaygın türler ise; *Escherichia albertii*, *Veillonella criceti*, *Allobaculum stercoricanis*, *Bifidobacterium choerinum*, *Serratia entomophila*, *Blautia coccoides*, *Pediococcus argentinus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus ultunensis*, *Alkaliphilus crotonatoxidans*, *Paenibacillus cellulosilyticus*, *Parapreotella clara*, *Lactobacillus hayakitensis*, *Ruminococcus callidus*, *Bacteroides sartorii*, *Lactobacillus antri*, *Parapedobacter koreensis*, *Lactobacillus vaginalis*, *Ruminococcus albus* ve *Streptococcus bovis*’dir.



Şekil 3.2. Erkek ve dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en sık görülen bakterilerin taksonomik sınıflandırması

3.2.1. Erkek Sıçanlarda Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, en baskın filumlar *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* olarak saptanmış, bu filumları, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* takip etmiştir (Şekil 3.3-A/B). Kontrol grubunda, başlangıçtaki (T0) dışkı mikrobiyotasını, %65,7 *Proteobacteria*, %18,3 *Firmicutes*, %10,2 *Bacteroidetes*, %4,2 *Actinobacteria* ve %1,6 diğer filumlar oluştururken; müdahale grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %45 *Proteobacteria*, %27,3 *Firmicutes*, %19,6 *Bacteroidetes* %6,3 *Actinobacteria* ve %1,8 diğer filumlar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *Proteobacteria* oranı birinci haftanın sonunda (T1) azalma eğilimi gösterirken (%60,7), ikinci haftanın sonunda (T2), başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%66,2). Dördüncü haftanın sonunda (T4) gözlemlenen düşüşü (%57,1) sekizinci haftanın sonundaki (T8) hızlı artış takip ederken (%72,6), deney sonunda (T12), *Proteobacteria* oranı, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%68,1). Müdahale grubunda ise, *Proteobacteria* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %49,5 ve %71,3), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %59,1 ve %50,4). Deney sonunda ise, hızlı bir yükselişle %76 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin 1,5 katından fazlasına ulaşmıştır.

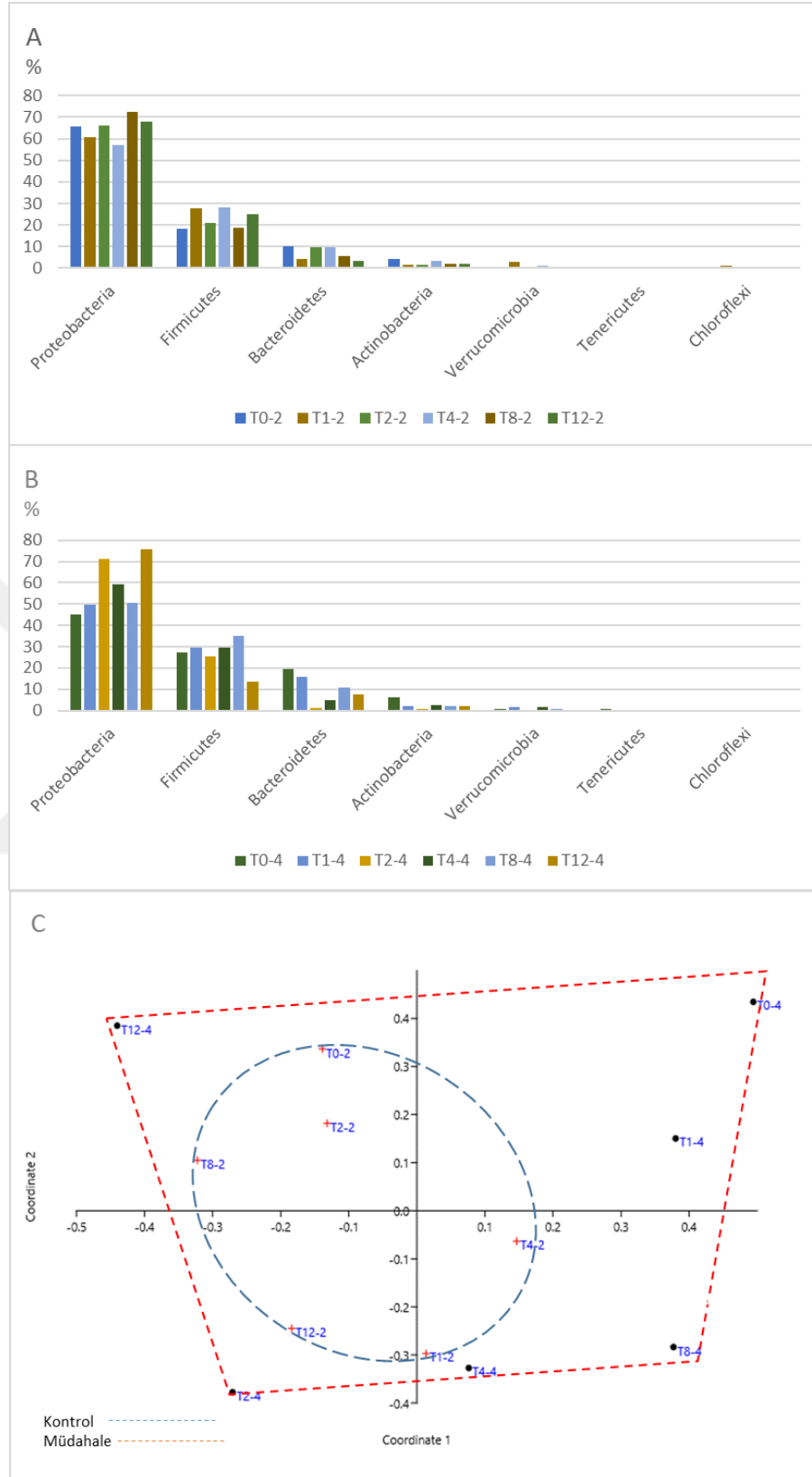
Firmicutes oranı, kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir; ilk haftanın sonundaki artışı (%27,6), ikinci haftanın sonundaki düşüş (%20,9) ve dördüncü haftanın sonundaki artış takip etmiştir (%28,1). Sekizinci haftanın sonunda tekrar düşme eğilimi gösteren *Firmicutes* oranı (%18,6), deney sonunda %25,1 seviyesine çıkmış ve başlangıç noktasına göre bir miktar artış göstermiştir. Müdahale grubunda ise *Firmicutes* oranında, ilk 4 hafta önemli bir değişim gözlenmezken, sekizinci haftanın sonunda bir miktar artış meydana gelmiştir (%35,1). Deney sonunda ise, *Firmicutes* oranı %13,4'e kadar inerek, başlangıç noktasındaki nispi çokluğunun yarısından azına düşmüştür.

Bacteroidetes oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda azalırken (%4,2), ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiştir (%9,7) ve dördüncü haftanın sonuna kadar sabit kalmıştır. Sekizinci haftanın bitişiyle birlikte azalma trendine giren (%5,8) *Bacteroidetes* filumunun nispi çokluğu, deney sonunda, başlangıç seviyesinin yaklaşık üçte birine kadar düşmüştür (%3,3). Müdahale grubunda ise *Bacteroidetes* oranında ilk haftanın sonunda hafif

bir azalma gözlemlenirken (%16), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%1). Bu noktadan sonra, kademli bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (sırası ile %4,9 ve %11), deney sonunda, *Bacteroidetes*'in nispi çokluğu %7,8'e düşmüş ve başlangıç noktasıyla kıyaslandığında yarıdan fazla azalmıştır.

Actinobacteria oranları ise, hem kontrol, hem de müdahale grubunda benzer bir trend göstermiştir. İki grupta da, ilk haftanın sonunda, *Actinobacteria* oranlarında dramatik bir düşüş gerçekleşmiş (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %1,3 ve %2), müdahale grubunda, ikinci haftanın sonunda düşüş trendi devam ederken (%0,9), kontrol grubunda önemli bir değişim meydana gelmemiştir (%1,4). Dördüncü haftanın sonunda ise, iki grupta da *Actinobacteria* oranlarında bir miktar artış görülürken (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %3,1 ve %2,6), sekizinci haftanın sonunda, gruplarda tekrar bir düşüş gözlemlenmiştir (sırası ile %1,9 ve %1,9). Deney sonunda *Actinobacteria*'nın nispi çokluğu, iki grupta da T8 anında kaydedilen değerden sapma göstermemiştir.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana filumların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 – T12-2), müdahale grubuna ait örnekler (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.3-C). Numuneler arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları, azaltılmış boyutlu bir alanda görselleştiren PCoA grafiğindeki her nokta bir örneği temsil etmekte ve noktalar arasındaki mesafe, örneklerin mikrobiyota kompozisyonları arasındaki farklılığı yansıtmaktadır. Buna göre, filum seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca müdahale grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, müdahale grubunun mikrobiyotasında, kontrol grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda filumlar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.3. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, baskın sınıflar *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia* ve *Actinobacteria* olarak saptanmış, bu sınıfları, *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* takip etmiştir (Şekil3.4-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %48,8 *Gammaproteobacteria*, %16,3 *Bacilli*, %10,5 *Bacteroidia*, %8,5 *Clostridia*, %6 *Actinobacteria* ve %9,9 diğer sınıflar oluştururken; müdahale grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %24,6 *Gammaproteobacteria*, %18,6 *Bacilli*, %18,5 *Bacteroidia*, %11,2 *Clostridia*, %8,3 *Actinobacteria*, %6,4 *Erysipelotrichi*, %6,4 *Sphingobacteriia* ve %6 diğer sınıflar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *Gammaproteobacteria* oranı birinci hafta sonunda azalma eğilimi gösterirken (%41,5), ikinci haftanın sonunda, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%49,1). Dördüncü haftanın sonunda gözlemlenen azalma eğilimini (%41,7) sekizinci hafta sonundaki artış takip ederken (%52,2), deney sonunda, *Gammaproteobacteria* oranı, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%45,5). Müdahale grubunda ise, *Gammaproteobacteria* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %30,1 ve %53,6), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %37,1 ve %25,9). Deney sonunda ise, dramatik bir yükselişle %58,9 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin 2 katından fazlasına ulaşmıştır.

Clostridia oranları, deney süresi boyunca, hem kontrol grubunda hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İki grupta da ilk haftanın sonundaki artışı (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %30,4 ve %22,6), ikinci haftanın sonunda bir düşüş (sırası ile %16,5 ve %15,5) ve dördüncü haftanın sonunda tekrar bir artış takip etmiştir (sırası ile %25 ve %18,3). Bununla birlikte, sekizinci hafta ve on ikinci haftada, kontrol grubunun *Clostridia* oranında azalma trendi gözlenirken (sırası ile %17,9 ve %15,9), müdahale grubundaki dalgalı seyir devam etmiştir (sırası ile %33,8 ve %13,3). Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Clostridia* oranları, kontrol grubunda yaklaşık iki katına kadar çıkarken, müdahale grubunda yalnızca hafif bir artış gözlemlenmiştir.

Bacilli oranları da *Clostridia* oranlarına benzer bir şekilde, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İki grupta da ilk haftanın sonundaki düşüşü (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %5,4 ve %14,8), ikinci haftanın sonunda bir artış (sırası ile %11,3 ve %21,5) ve dördüncü haftanın sonunda tekrar bir düşüş takip etmiştir (sırası ile %9 ve %18,4). Bununla birlikte, sekizinci hafta ve on ikinci haftada, kontrol grubunun

Bacilli oranında kademeli bir artış gözlenirken (sırası ile %10,3 ve %23,1), müdahale grubunda, kademeli bir düşüş gerçekleşmiştir (sırası ile %14,3 ve %4,2). Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Bacilli* oranları, kontrol grubunda artarken, müdahale grubunda yaklaşık dörtte birine kadar düşmüştür.

Bacteroidia oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%2,7) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%9,1) ve dördüncü haftanın sonuna kadar sabit kalmıştır. Bu noktadan sonra azalma trendine giren *Bacteroidia* sınıfının nispi çokluğu (%7,7), deney sonunda, başlangıç seviyesinin yaklaşık yarısına kadar düşmüştür (%4,4). Müdahale grubunda ise *Bacteroidia* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%15,9), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%1). Bu noktadan sonra sekizinci haftanın sonuna dek, kademeli bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (sırası ile %4,1 ve %13,5), deney sonunda, *Bacteroidia*'in nispi çokluğu %9,7'ye inerek, başlangıç seviyesindeki nispi çokluğunun yaklaşık yarısına kadar düşmüştür.

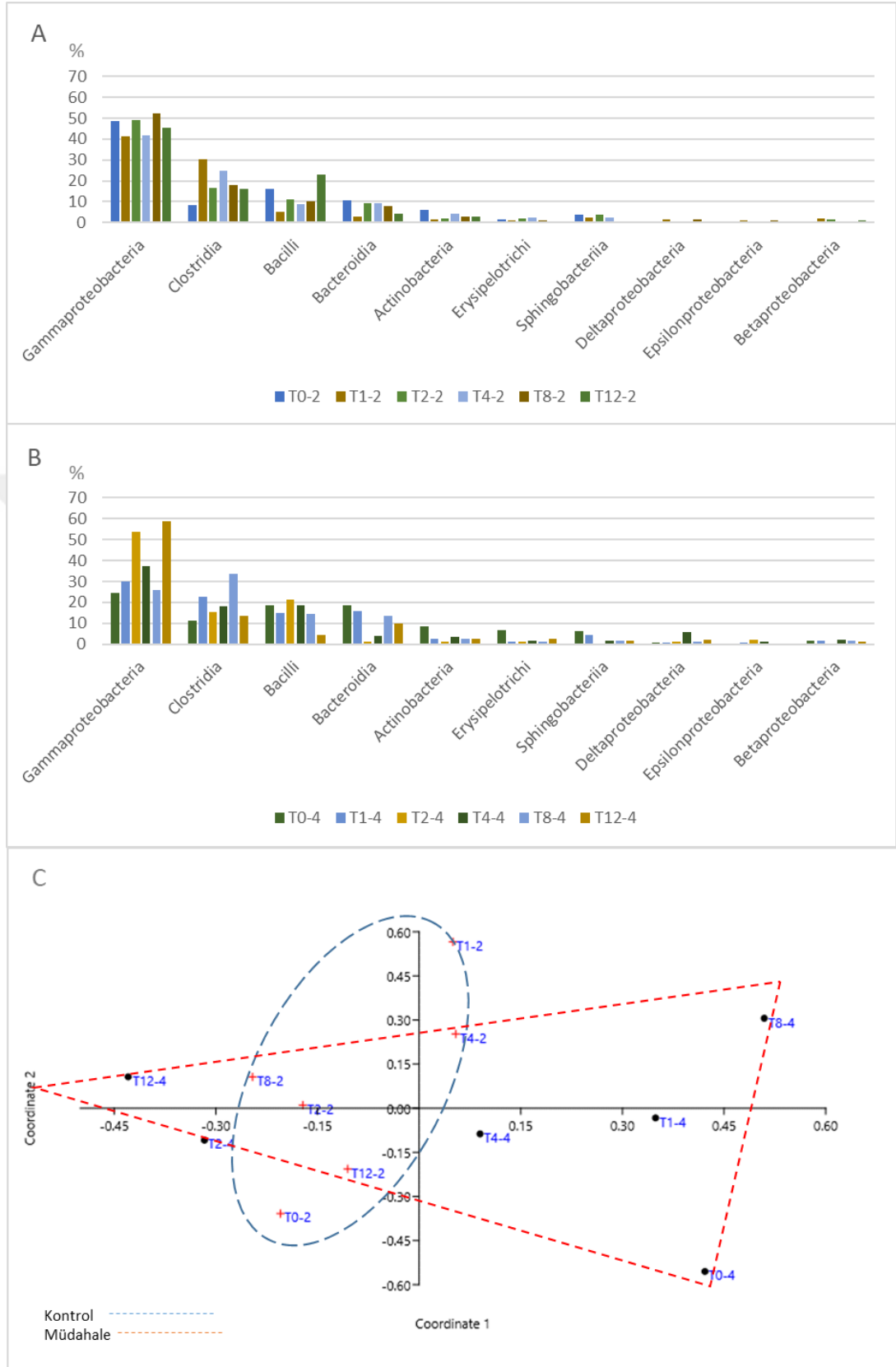
Actinobacteria oranları ise, hem kontrol, hem de müdahale grubunda benzer bir trend göstermiştir. İki grupta da, ilk haftanın sonunda, *Actinobacteria* oranlarında dramatik bir düşüş gerçekleşmiş (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %1,6 ve %2,7), müdahale grubunda, ikinci haftanın sonunda düşüş trendi devam ederken (%1,3), kontrol grubunda hafif bir artış meydana gelmiştir (%2). Dördüncü haftanın sonunda ise, iki grupta da *Actinobacteria* oranlarında bir miktar artış görülürken (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %4,1 ve %3,3), sekizinci haftanın sonunda, gruplarda tekrar bir düşüş gözlemlenmiştir (sırası ile %3,1 ve %2,5). Deney sonunda *Actinobacteria*'nın nispi çokluğu, iki grupta da T8 anında kaydedilen değerden önemli bir sapma göstermemiştir.

Başlangıç noktasında nispi çokluğu, diğer sınıflara göre görece yüksek olan *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* sınıflarının oranları ise, deney süresi boyunca iki grupta da inişli çıkışlı bir ilerleme göstermiştir. *Erysipelotrichi* oranı, deney sonunda kontrol grubunda %0,8; müdahale grubunda ise %2,8 seviyesine gerileyerek iki grupta da başlangıç seviyesine göre düşüş göstermiştir. *Sphingobacteriia* oranı ise, deney sonunda kontrol grubunda %0,6; müdahale grubunda ise %1,8 seviyesine gerileyerek *Erysipelotrichi* oranına benzer şekilde, iki grupta da başlangıç seviyesinin altında kalmıştır.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana sınıfların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 –

T12-2), müdahale grubuna ait örneklere (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.4-C). Buna göre, sınıf seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca müdahale grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, müdahale grubunun mikrobiyotasında, kontrol grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda sınıflar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.





Şekil 3.4. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, baskın takımlar *Enterobacteriales*, *Clostridiales*, *Lactobacilliales* ve *Bacteroidales* olarak saptanmış, bu takımları, *Bacilliales*, *Erysipelotrichales*, *Bifidobacteriales* ve *Spingobacteriales* takip etmiştir (Şekil3.5-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %46,4 *Enterobacteriales*, %11,9 *Lactobacilliales*, %10,7 *Bacteroidales*, %8 *Clostridiales*, %3,8 *Spingobacteriales*, %3,5 *Bacilliales*, %3,5 *Actinomycetales*, %2,6 *Bifidobacteriales* ve %9,6 diğer takımlar oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %23 *Enterobacteriales*, %18,7 *Bacteroidales*, %17,1 *Lactobacilliales*, %10,5 *Clostridiales*, %7,1 *Bifidobacteriales*, %6,5 *Spingobacteriales*, %6,5 *Erysipelotrichales* ve %10,6 diğer takımlar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *Enterobacteriales* oranı birinci hafta sonunda azalma eğilimi gösterirken (%38,5), ikinci haftanın sonunda, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%45,6). Dördüncü haftanın sonunda gözlemlenen azalma eğilimini (%40,3), sekizinci hafta sonundaki artış takip ederken (%45,4), deney sonunda, *Enterobacteriales* oranı, başlangıç seviyesinin altına inmiştir (%40,6). Müdahale grubunda ise, *Enterobacteriales* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %27,7 ve %52), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %35,9 ve %18,8). Deney sonunda ise, dramatik bir yükselişle %39,2 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin 1,5 katından fazlasına ulaşmıştır.

Clostridiales oranları, deney süresi boyunca, hem kontrol grubunda hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İki grupta da ilk haftanın sonundaki artışı (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %30 ve %22,2), ikinci haftanın sonunda bir düşüş (sırası ile %16 ve %15,5) ve dördüncü haftanın sonunda tekrar bir artış takip etmiştir (sırası ile %24,2 ve %16,8). Bununla birlikte, sekizinci hafta ve on ikinci haftada, kontrol grubunun *Clostridiales* oranında azalma trendi gözlenirken (sırası ile %16,4 ve %15,3), müdahale grubundaki dalgalı seyir devam etmiştir (sırası ile %33,5 ve %12,3). Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Clostridiales* oranları, kontrol grubunda yaklaşık iki katına kadar çıkarken, müdahale grubunda yalnızca hafif bir artış gözlemlenmiştir.

Lactobacilliales oranları da *Clostridiales* oranlarına benzer bir şekilde, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı düşüşü (%3,8), ikinci ve dördüncü haftanın sonundaki kademeli artış takip ederken (sırası ile %6 ve %8,1), sekizinci ve on ikinci haftaların sonlarında *Lactobacilliales*

oranında, sırası ile bir düşüş (%3,4) ve artış meydana gelmiştir (%5,8). Müdahale grubunda ise, ilk iki haftanın sonundaki kademeli düşüş trendini (sırası ile %13,8 ve %4,9), dördüncü ve sekizinci haftaların sonlarındaki kademeli artış (sırası ile %6,1 ve %9) takip etmiş, deney sonunda ise *Lactobacilliaes* oranı %3,6 seviyesine kadar düşmüştür. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Lactobacilliales* oranları, kontrol grubunda yaklaşık yarısına, müdahale grubunda ise yaklaşık dörtte birine kadar düşmüştür.

Bacteroidales oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%2,8) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%9,3) ve dördüncü haftanın sonuna kadar sabit kalmıştır. Sekizinci haftanın bitişiyle birlikte azalma trendine giren (%8,1) *Bacteroidales* sınıfının nispi çokluğu, deney sonunda, başlangıç seviyesinin yaklaşık yarısına kadar düşmüştür (%4,5). Müdahale grubunda ise *Bacteroidales* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%16,1), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%1). Dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda, kademli bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (sırası ile %4,2 ve %13,9), deney sonunda, *Bacteroidales*'in nispi çokluğu %10,2'ye inerek, başlangıç seviyesindeki nispi çokluğunun yaklaşık yarısına kadar düşmüştür.

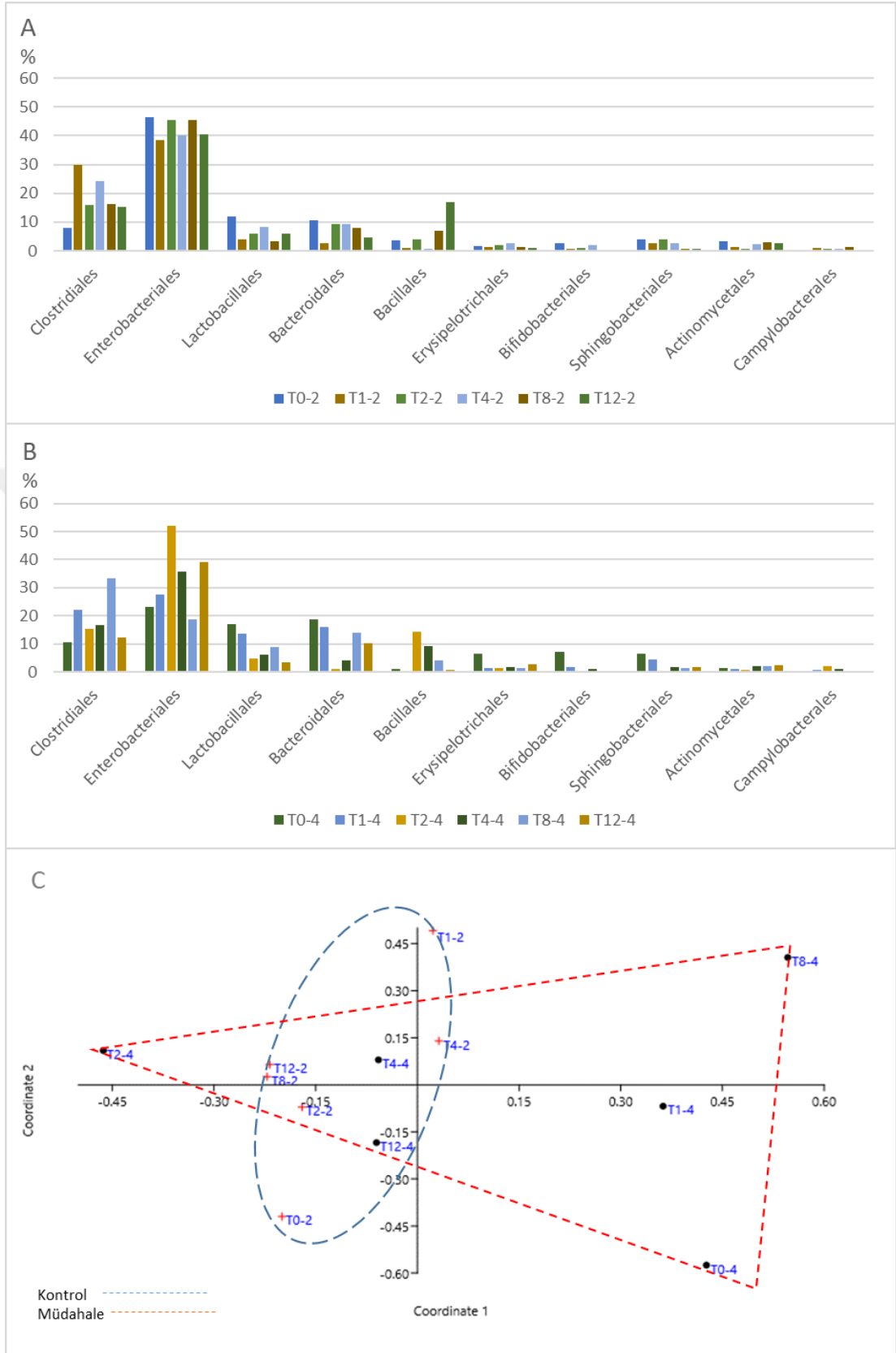
Bacilliales oranı, kontrol grubunda, dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk haftanın sonunda azalan *Bacilliales* oranı (%1,1), ikinci haftanın sonunda tekrar başlangıç seviyelerine yaklaşmış (%3,8) ve dördüncü haftanın sonunda dramatik bir düşüş göstermiştir (%0,6). Sekizinci ve on ikinci haftaların sonunda kademeli bir artış gösteren *Bacilliales* oranı (sırası ile %7 ve %16,9), deney sonunda başlangıç seviyesinin yaklaşık dört katına kadar çıkmıştır. Müdahale grubunda ise, ilk haftanın sonunda azalan *Bacilliales* oranı (%0,5), ikinci haftanın sonunda hızlı bir artış göstermiş (%14,2) ve bu noktadan sonra deney sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %9,4, %4,3 ve %0,7). Deney sonunda ölçülen *Bacilliales*'in nispi çokluğu, başlangıç noktasında kaydedilen değere yaklaşmıştır.

Numuneler arasında yaygın olarak gözlenen bir diğer takım olan *Bifidobacteriales*'in oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%0,5), ikinci ve dördüncü haftaların sonunda kademeli olarak artış göstermiştir (sırası ile %1,1 ve %1,9). Sekizinci haftanın sonunda tekrar dramatik bir düşüş gösteren *Bifidobacteriales* oranı (%0,2), deney sonunda sabit kalmakla birlikte, başlangıç seviyesine kıyasla yaklaşık sekizde birine kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise, *Bifidobacteriales* oranı, kontrol grubuna benzer şekilde, ilk haftanın sonunda, dramatik bir düşüş göstermiş (%1,6) ve ikinci haftanın sonunda,

bu düşüş trendi devam etmiştir (%0,4). Dördüncü haftanın sonuyla birlikte hafif bir artış gösteren *Bifidobacteriales* oranı (%1,2), daha sonraki haftalarda tekrar düşüş trendine girerek deney sonunda %0,1 seviyesine kadar inmiştir. Bu düşüşle birlikte, müdahale grubunda, başlangıç seviyesine kıyasla *Bifidobacteriales* oranında önemli bir fark meydana gelmiştir.

Yaygın takımlar arasında yer alan *Sphingobacteriales* oranları ise, hem müdahale hem de kontrol grubunda, zaman içerisinde artış gösterdikleri noktalar olmasına karşın (kontrol grubunda T2, müdahale grubunda T4), genel olarak düşüş trendi göstermiştir. *Sphingobacteriales* oranları deney sonunda, kontrol grubunda %0,6 seviyelerine kadar inerken, müdahale grubunda %1,9 seviyesine düşmüştür.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana takımların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 – T12-2), müdahale grubuna ait örneklerle (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.5-C). Buna göre, takım seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca müdahale grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, müdahale grubunun mikrobiyotasında, kontrol grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda takımlar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.5. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 10 takım. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, baskın familyalar *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae* ve *Veillonellaceae* olarak saptanmış, bu familyaları, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Ruminococcaceae* ve *Sphingobacteriaceae* izlemiştir (Şekil3.6-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %48 *Enterobacteriaceae*, %10,3 *Lactobacillaceae*, %4,7 *Bacteroidaceae*, %3,6 *Sphingobacteriaceae*, %2,7 *Bifidobacteriaceae*, %2,5 *Lachnospiraceae*, %2,3 *Clostridiaceae* ve %25,9 diğer familyalar oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %23,6 *Enterobacteriales*, %15,6 *Lactobacillaceae*, %7,6 *Bacteroidaceae*, %7,3 *Bifidobacteriaceae*, %6,7 *Erysipelotrichaceae*, %6,4 *Sphingobacteriaceae*, %6,2 *Prevotellaceae*, %4,2 *Clostridiaceae*, %3,7 *Lachnospiraceae* ve %18,7 diğer familyalar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *Enterobacteriaceae* oranı birinci hafta sonunda azalma eğilimi gösterirken (%39,3), ikinci haftanın sonunda, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%46,3). Dördüncü haftanın sonunda gözlemlenen azalma eğilimini (%41,5) sekizinci hafta sonundaki artış takip ederken (%46,2), deney sonunda, *Enterobacteriaceae* oranı, başlangıç seviyesinin altına inmiştir (%41,2). Müdahale grubunda ise, *Enterobacteriaceae* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %28,9 ve %52,7), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %36,7 ve %19,3). Deney sonunda ise, dramatik bir yükselişle %40,3 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin 1,5 katından fazlasına ulaşmıştır.

Lactobacillaeae oranının zamana bağlı değişimi, kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk haftanın sonundaki hızlı düşüşü (%2,6), ikinci ve dördüncü haftanın sonundaki kademeli artış takip ederken (sırası ile %5,3 ve %5,6), sekizinci ve on ikinci haftaların sonlarında *Lactobacillaeae* oranında, sırası ile bir düşüş (%1,1) ve artış meydana gelmiştir (%1,5). Müdahale grubunda ise, *Lactobacillaeae* oranı deney süresince kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %11,7, %4, %3,5, %2,8 ve %1,5). Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Lactobacillaeae* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda önemli miktarda düşüş göstermiştir.

Veillonellaceae oranları, hem kontrol hem müdahale grubunda benzer bir trend izlemiştir. İki grupta da başlangıç noktasından ikinci haftanın sonuna dek kademeli bir artış meydana gelirken (kontrol grubu için sırası ile %3 ve %4,4; müdahale grubu için sırası ile %2

ve %9,1), dördüncü haftanın sonunda, kontrol grubundaki artış devam etmiş (%5,2), müdahale grubunda ise dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%2,7). Sekizinci haftanın sonunda, iki grubun da *Veillonellaceae* oranları artarken (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %6,4 ve %10), deney sonunda, gruplarda dramatik bir düşüş meydana gelmiş ve *Veillonellaceae* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda, başlangıç noktasındaki değerlerine yaklaşmıştır (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %1,9 ve %1,1).

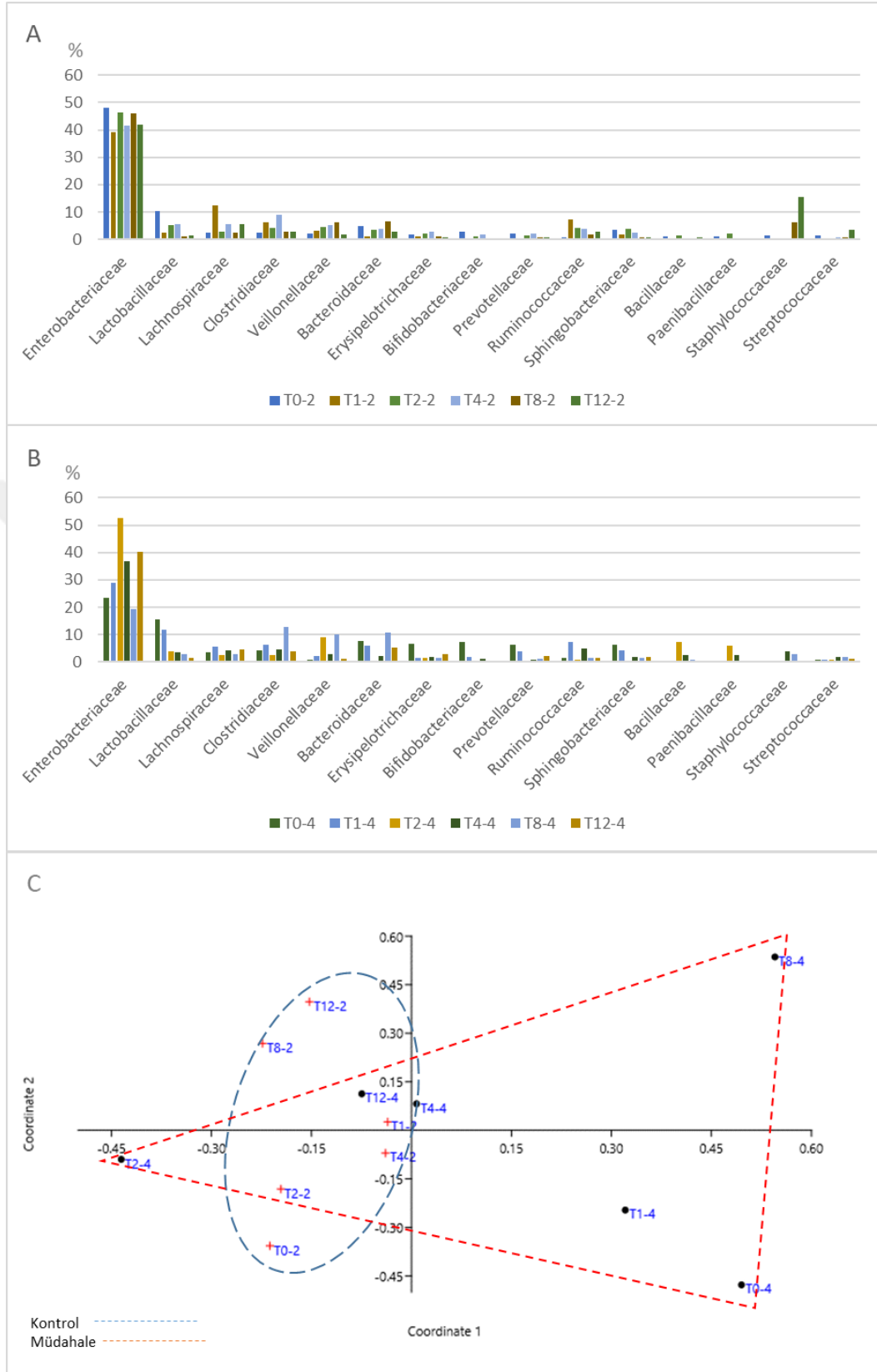
Bacteroidaceae oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,1) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%3,5) ve yükselme trendini sekizinci haftanın sonuna dek devam ettirmiştir (T4 ve T8 için sırası ile %3,9 ve %6,5). Deney sonunda, *Bacteroidaceae* familyasının nispi çokluğu, başlangıç seviyesinin yaklaşık yarısına kadar düşmüştür (%2,6). Müdahale grubunda ise *Bacteroidaceae* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%6,1), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%0,5). Dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda, kademli bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (sırası ile %2,2 ve %10,9), deney sonunda, *Bacteroidaceae*'in nispi çokluğu %5,3'e inerek, başlangıç seviyesinin altında kalmıştır.

Lachnospiraceae, *Clostridiaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Ruminococcaceae* ve *Sphingobacteriaceae* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda, *Lachnospiraceae* oranları, kontrol grubunda yaklaşık iki katına varırken, müdahale grubunda hafif bir artış meydana gelmiştir (sırası ile %5,4 ve %4,8). *Clostridiaceae* oranları, başlangıç seviyelerine kıyasla, deney sonunda önemli bir değişim göstermemiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %2,7 ve %3,9). Bununla birlikte, *Bifidobacteriaceae* oranları, gruplarda, başlangıç seviyelerine göre önemli miktarda düşüş göstermiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,3 ve %0,1). Benzer şekilde, *Sphingobacteriaceae* oranları da, deney sonunda önemli miktarda azalmıştır (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,6 ve %1,9). *Ruminococcaceae* oranları ise, deney sonunda, başlangıç seviyelerine kıyasla kontrol grubunda yaklaşık üç katına varırken, müdahale grubunda hafif bir artış meydana gelmiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %2,6 ve %1,6).

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana familyaların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 – T12-2), müdahale grubuna ait örneklerle (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.6-C). Buna göre, familya seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal

kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca müdahale grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, müdahale grubunun mikrobiyotasında, kontrol grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda familyalar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.





Şekil 3.6. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 15 familya. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, baskın cinsler *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Blautia* ve *Bifidobacterium* olarak saptanmış, bu familyaları, *Serratia*, *Prevotella*, *Allobaculum* ve *Clostridium* izlemiştir (Şekil3.7-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %33,8 *Escherichia*, %9,4 *Lactobacillus*, %5,8 *Bacteroides*, %4,3 *Serratia*, %3,3 *Bifidobacterium*, %2,7 *Pediococcus*, %2,7 *Prevotella*, %2,2 *Blautia*, %2,1 *Allobaculum* ve %33,7 diğer cinsler oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %14,6 *Escherichia*, %14,3 *Lactobacillus*, %8,6 *Bacteroides*, %8,3 *Bifidobacterium*, %7,6 *Allobaculum*, %7,1 *Prevotella*, %4 *Olivibacter*, %3,2 *Blatia*, %2,2 *Pediococcus*, %2,1 *Serratia* ve %21,8 diğer cinsler oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *Escherichia* oranı birinci haftanın sonunda azalma eğilimi gösterirken (%25,7), ikinci haftanın sonunda, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%32,3). Dördüncü haftanın sonunda gözlemlenen azalma eğilimini (%24,8) sekizinci hafta sonundaki artış takip ederken (%27,6), deney sonunda, *Escherichia* oranı, başlangıç seviyesinin altına inmiştir (%20,8). Müdahale grubunda ise, *Escherichia* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %18,6 ve %36,3), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %23,7 ve %7,8). Deney sonunda ise, dramatik bir yükselişle %19,9 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin üzerine çıkmıştır.

Lactobacillus oranlarının zamana bağlı değişimi, kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk haftanın sonundaki hızlı düşüşü (%2,6), ikinci ve dördüncü haftanın sonundaki kademeli artış takip ederken (sırası ile %3,4 ve %5,1), sekizinci ve on ikinci haftaların sonlarında *Lactobacillus* oranında, sırası ile bir düşüş (%0,4) ve artış meydana gelmiştir (%1,1). Müdahale grubunda ise, *Lactobacillus* oranı, ilk iki haftanın sonunda kademeli olarak azalırken (sırası ile %10,5 ve %1,9), dördüncü ve sekizinci haftanın sonunda hafifçe artmıştır (sırası ile %2 ve %2,3). Deney sonunda ise *Lactobacillus* oranı, %1,3 seviyesine gerilemiştir. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Lactobacillus* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda önemli miktarda düşüş göstermiştir.

Veillonella oranları, hem kontrol hem müdahale grubunda benzer bir trend izlemiştir. İki grupta da başlangıç noktasından ikinci haftanın sonuna dek kademeli bir artış meydana gelirken (kontrol grubu için sırası ile %2,9 ve %4,9; müdahale grubu için sırası ile %1,9 ve

%10,9), dördüncü haftanın sonunda, kontrol grubundaki artış devam etmiş (%5,9), müdahale grubunda ise dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%1,6). Sekizinci haftanın sonunda, iki grubun da *Veillonella* oranları artarken (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %6,7 ve %10,6), deney sonunda, gruplarda dramatik bir düşüş meydana gelmiş ve *Veillonellaceae* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda, başlangıç noktasındaki değerlerine yaklaşmıştır (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %1,9 ve %1).

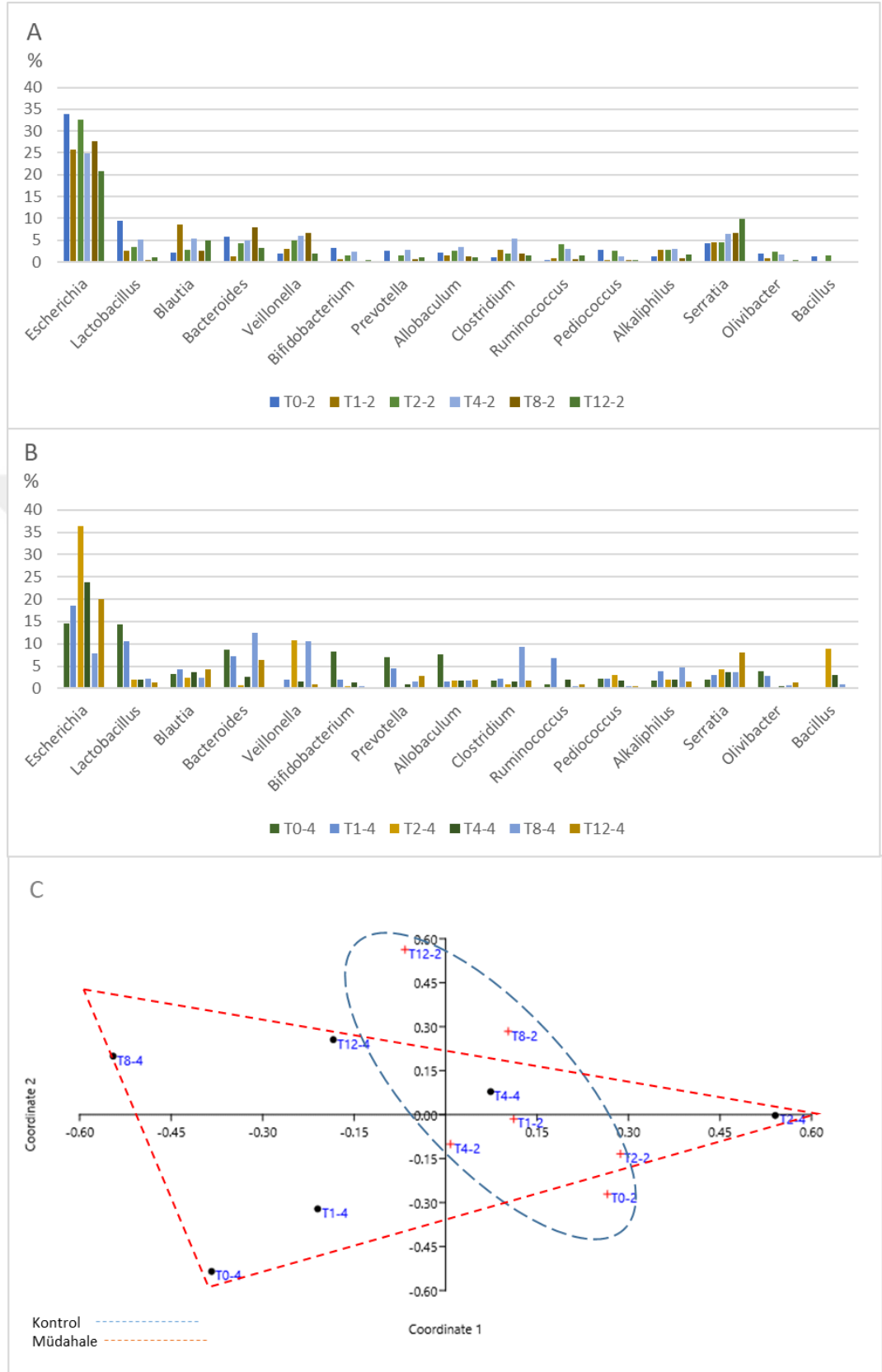
Bacteroides oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,4) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%4,4) ve yükselme trendini sekizinci haftanın sonuna dek devam ettirmiştir (T4 ve T8 için sırası ile %4,9 ve %8). Deney sonunda, *Bacteroides* cinsinin nispi çokluğu, başlangıç seviyesinin yaklaşık yarısına kadar düşmüştür (%3,2). Müdahale grubunda ise *Bacteroides* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%7,1), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%0,6). Dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda, kademli bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (sırası ile %2,6 ve %12,4), deney sonunda, *Bacteroides*'in nispi çokluğu %6,4'e inerek, başlangıç seviyesinin altında kalmıştır.

Blautia, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Allobaculum*, *Clostridium* ve *Serratia* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Blautia* oranları, kontrol grubunda yaklaşık iki katına varırken, müdahale grubunda yaklaşık 1,5 katına çıkmıştır (sırası ile %4,9 ve %4,3). *Bifidobacterium* oranları, gruplarda, başlangıç seviyelerine göre önemli miktarda düşüş göstermiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,4 ve %0,2). *Prevotella* ve *Allobaculum* cinslerinin nispi çokluğu da, başlangıç seviyelerine kıyasla, deney sonunda azalma göstermiştir (kontrol grubu için sırası ile %1,1 ve %1,1; müdahale grubu için sırası ile %2,8 ve %2). Bununla birlikte, *Serratia* oranları, deney sonunda, her iki grupta da artarak kontrol grubunda yaklaşık iki, müdahale grubunda ise yaklaşık dört katına kadar çıkmıştır (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %9,8 ve %8,1). *Clostridium* oranları ise farklı zaman noktalarında iniş ve çıkışlar göstermesine karşın, başlangıç seviyelerine kıyasla, deney sonunda önemli bir değişim göstermemiş ve iki grupta da %2'nin altında kalmıştır.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana cinslerin göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 – T12-2), müdahale grubuna ait örneklerle (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.7-C). Buna göre, cins seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal

kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Bununla birlikte kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda cinsler arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.





Şekil 3.7. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 15 cins. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanların dışkı numunelerinde, baskın türler *Escherichia albertii*, *Veillonella criceti*, *Allobaculum stercoricanis*, *Serratia entomophila* ve *Bifidobacterium choerinum* olarak saptanmış, bu türleri, *Blautia coccoides*, *Pediococcus argentinicus* ve *Lactobacillus johnsonii* izlemiştir (Şekil3.8-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %42,4 *E.albertii*, %5,5 *S.entomophila*, %3 *B.choerinum*, %2,7 *P.argentinicus*, %2,7 *A.stercoricanis*, %2,3 *Lactobacillus antri*, %2,3 *Lactobacillus vaginalis*, %2,1 *Vibrio pectenocida* ve %37 diğer türler oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %20 *E.albertii*, %10,1 *A.stercoricanis*, %7,9 *B.choerinum*, %4,8 *Lactobacillus ultunensis*, %4,7 *L.johnsonii*, %2,9 *P.argentinicus*, %2,9 *S.entomophila*, %2,3 *Parapedobacter koreensis* ve %44,4 diğer türler oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Kontrol grubunda, *E.albertii* oranı birinci haftanın sonunda azalma eğilimi gösterirken (%37,7), ikinci haftanın sonunda, başlangıç seviyesine tekrar yaklaşmıştır (%39,8). Dördüncü haftanın sonunda gözlemlenen azalma eğilimini (%31,3) sekizinci hafta sonundaki artış takip ederken (%35,4), deney sonunda, *E.albertii* oranı, başlangıç seviyesinin altına inmiştir (%26,9). Müdahale grubunda ise, *E.albertii* oranı, birinci ve ikinci haftanın sonunda artış göstermekle birlikte (sırası ile %24,8 ve %44,4), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda düşme trendi göstermiştir (sırası ile %33,5 ve %11). Deney sonunda ise, hızlı bir yükselişle %26,5 seviyesine gelerek, başlangıç seviyesinin üzerine çıkmıştır.

V.criceti, her iki grupta da başlangıç noktasında %2'nin altında olmasına karşın (kontrol ve müdahale grupları için sırası ile %1,1 ve %0,2), deney süreci içerisinde farklı ölçüm noktalarında, baskın türler arasında yer almıştır. Kontrol grubunda *V.criceti* oranı, birinci, ikinci ve dördüncü haftaların sonunda kademeli olarak artış gösterirken (sırası ile %3,4, %5,1 ve %5,8), sekizinci haftanın sonunda hafif bir düşüş göstermiş (%5,6) ve deney sonunda %1,9 seviyesine gerilemiştir. Müdahale grubunda ise, *V.criceti* oranı dalgalı bir grafik sergilemiştir; ilk iki haftanın sonundaki hızlı yükselişi (sırası ile %2,3 ve %11,9), dördüncü haftanın sonundaki dramatik düşüş (%1,7) ve sekizinci haftanın sonundaki artış takip etmiştir (%10,5). Deney sonunda ise *V.criceti* oranı, tekrar düşerek %1,2 seviyesine kadar gerilemiştir.

S.entomophila oranlarının zamana bağlı değişimi, hem kontrol hem de müdahale grubunda yukarı doğru bir eğilim göstermiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki artışı (%6,9), ikinci haftanın sonunda hafif bir düşüş izlemiş (%5,6) ve bundan sonraki ölçüm noktalarında *S.entomophila* oranı kademeli olarak artış göstermiştir (sırası ile %7,9, %8,7 ve

%13,6). Müdahale grubunda ise *S.entomophia* oranı ilk iki haftanın sonunda artış gösterirken (sırası ile %4 ve %5,4), dördüncü ve sekizinci haftanın sonunda sabit kalmış, on ikinci haftanın sonunda ise, dramatik bir artış göstererek %11,2 seviyesine çıkmıştır. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *S.entomophia* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda önemli miktarda artış göstererek kontrol grubunda yaklaşık iki buçuk, müdahale grubunda ise yaklaşık dört katına çıkmıştır.

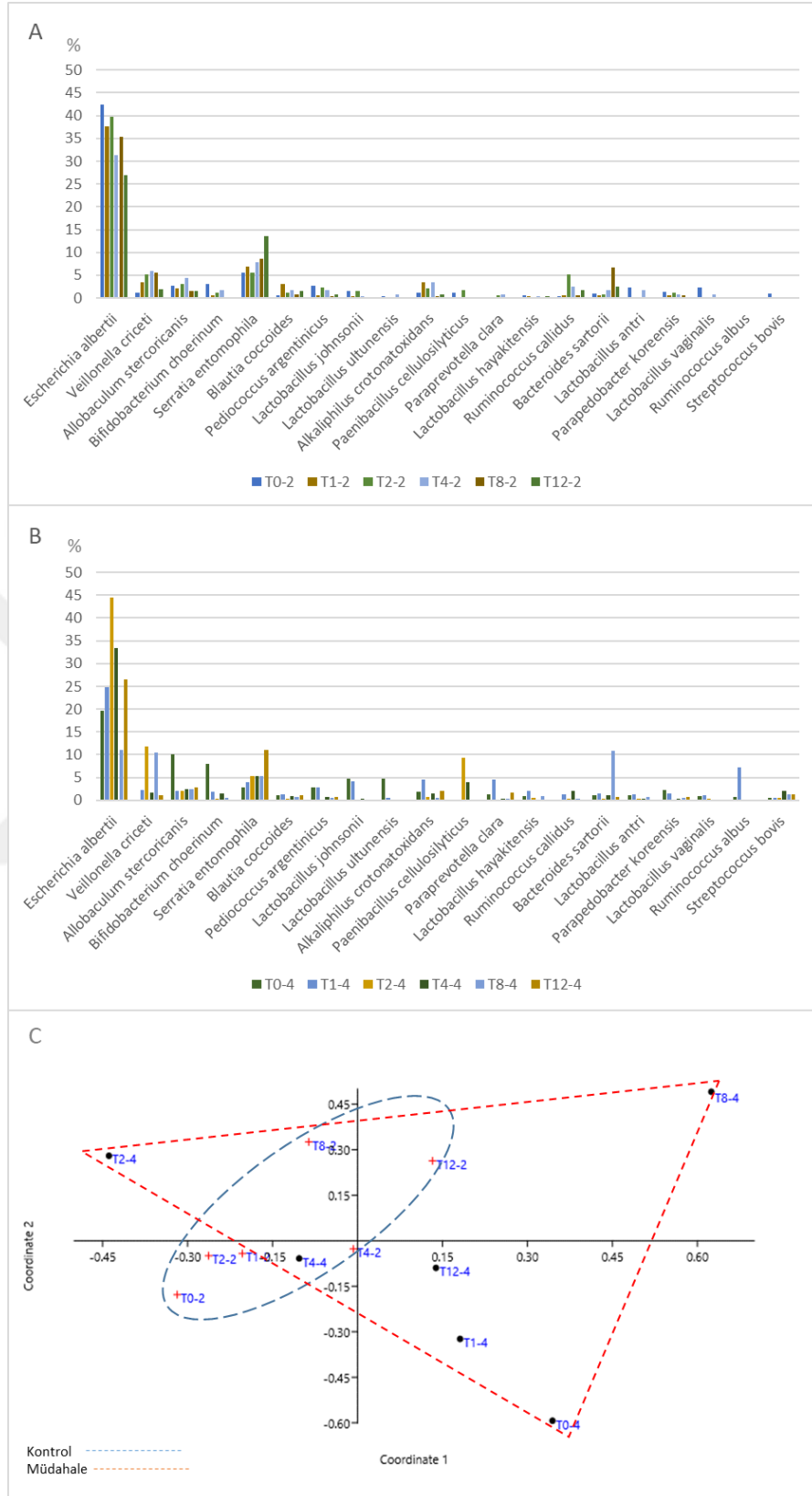
B.choerinum oranı, kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk haftanın sonundaki hızlı düşüşü (%0,5), ikinci ve dördüncü haftanın sonundaki kademeli artış takip ederken (sırası ile %1,2 ve %1,7), sekizinci haftanın sonunda *B.choerinum* oranında dramatik bir düşüş meydana gelmiş (%0,2) ve on ikinci haftanın sonunda bu oran sabit kalmıştır. Müdahale grubunda ise, *B.choerinum* oranı, ilk iki haftanın sonunda kademeli olarak azalırken (sırası ile %1,9 ve %0,4), dördüncü haftanın sonunda bir artış meydana gelmiş (%1,4), sekizinci ve on ikinci haftaların sonlarında ise kademeli olarak azalarak %0,05'in altına düşmüştür.

A.stercoricanis oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda hafif bir düşüş gösterirken (%2,1) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%3,1) ve yükselme trendini dördüncü haftanın sonuna dek devam ettirmiştir (%4,5). Sekizinci haftanın sonunda tekrar azalma trendine giren *A.stercoricanis* oranı (%1,6), deney sonuna dek değişim göstermemiştir. Müdahale grubunda ise *A.stercoricanis* oranında ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gözlemlenirken (%2,1), ikinci haftanın sonunda bu oran sabit kalmıştır. Dördüncü haftanın sonundan deney bitişine kadar önemli bir değişim göstermeyen *A.stercoricanis* oranı, deney sonunda başlangıç seviyesine kıyasla yaklaşık üçte bir oranına inmiştir.

B.coccoides, *P.argentinus* ve *L.johnsonii* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemekle birlikte, başlangıç noktasına kıyasla deney sonunda *P.argentinus* ve *L.johnsonii* gruplarda genel bir azalma eğilimi gösterirken, *B.coccoides* oranı, müdahale grubunda değişim göstermemiş, kontrol grubunda ise bir miktar artmıştır. *L.johnsonii* oranı, başlangıç noktasında, müdahale grubunda kontrol grubuna kıyasla görece yüksek olmasına karşın, deney sonunda iki grupta da %0,05'in altına inmiştir. *P.argentinus* oranları ise, iki grupta da başlangıç noktasında %2,5'in üzerindeyken, deney sonunda %0,7'ye inmiştir. Bununla birlikte, *B.coccoides*, kontrol grubunda başlangıçtaki nispi çokluğunu arttırarak %1,5 seviyesine çıkarken, müdahale grubunda %1,2 oranında sabit kalmıştır.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana türlerin göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, kontrol grubuna ait örnekler (T0-2 – T12-2), müdahale grubuna ait örneklerle (T0-4 – T12-4) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.8-C). Buna göre, tür seviyesinde, müdahale grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, kontrol grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Bununla birlikte kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda türler arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.





Şekil 3.8. Erkek sıçanlarda en fazla görülen 20 tür. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm erkek sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

3.2.2. Dişi Sıçanlarda Dışkı Mikrobiyota Değişiminin Değerlendirilmesi

Kontrol ve mşdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın filumlar *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* olarak saptanmış, bu filumları, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* takip etmiştir (şekil 3.9-A/B). Kontrol grubunda, başlangıçtaki dışkı mikrobiyotasını, %43 *Firmicutes*, %29 *Proteobacteria*, %18,9 *Bacteroidetes*, %7,2 *Actinobacteria* ve %1,9 diğer filumlar oluştururken; mşdahale grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %48,1 *Firmicutes*, %29,2 *Proteobacteria*, %11,7 *Bacteroidetes*, %8,3 *Actinobacteria* ve %2,7 diğer filumlar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçşde değişim gşstermiştir.

Kontrol grubunda, *Proteobacteria* oranında birinci haftanın sonunda hafif bir azalma eğilimi olmasına karşın (%28), ikinci haftanın sonundan sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli bir artış meydana gelmiştir (sırası ile %47,6, %60,9 ve %81,7). Deney sonunda *Proteobacteria*'nın nispi çokluğunda, sekizinci haftaya gşe bir miktar azalma meydana gelmesine karşın (%66), başlangıç seviyesiyle karşılaştırıldığında, *Proteobacteria* oranı iki katı aşkın bir artış gşstermiştir. Mşdahale grubunda ise, *Proteobacteria* oranında, ilk haftanın sonundaki hafif artışı (%33,6), ikinci ve dşrdşncş haftaların sonundaki kademeli dşşşş takip etmiş (%26,3 ve %25,6), sekizinci haftanın sonunda ise *Proteobacteria*'nın nispi çokluğunda hızlı bir artış meydana gelmiştir (%47,7). Deney sonunda, *Proteobacteria* oranı %41,1'e dşşmesine karşın, başlangıç seviyesine kıyasla önemli bir artış gşstererek dışkı mikrobiyotasındaki birincil baskın filum haline gelmiştir.

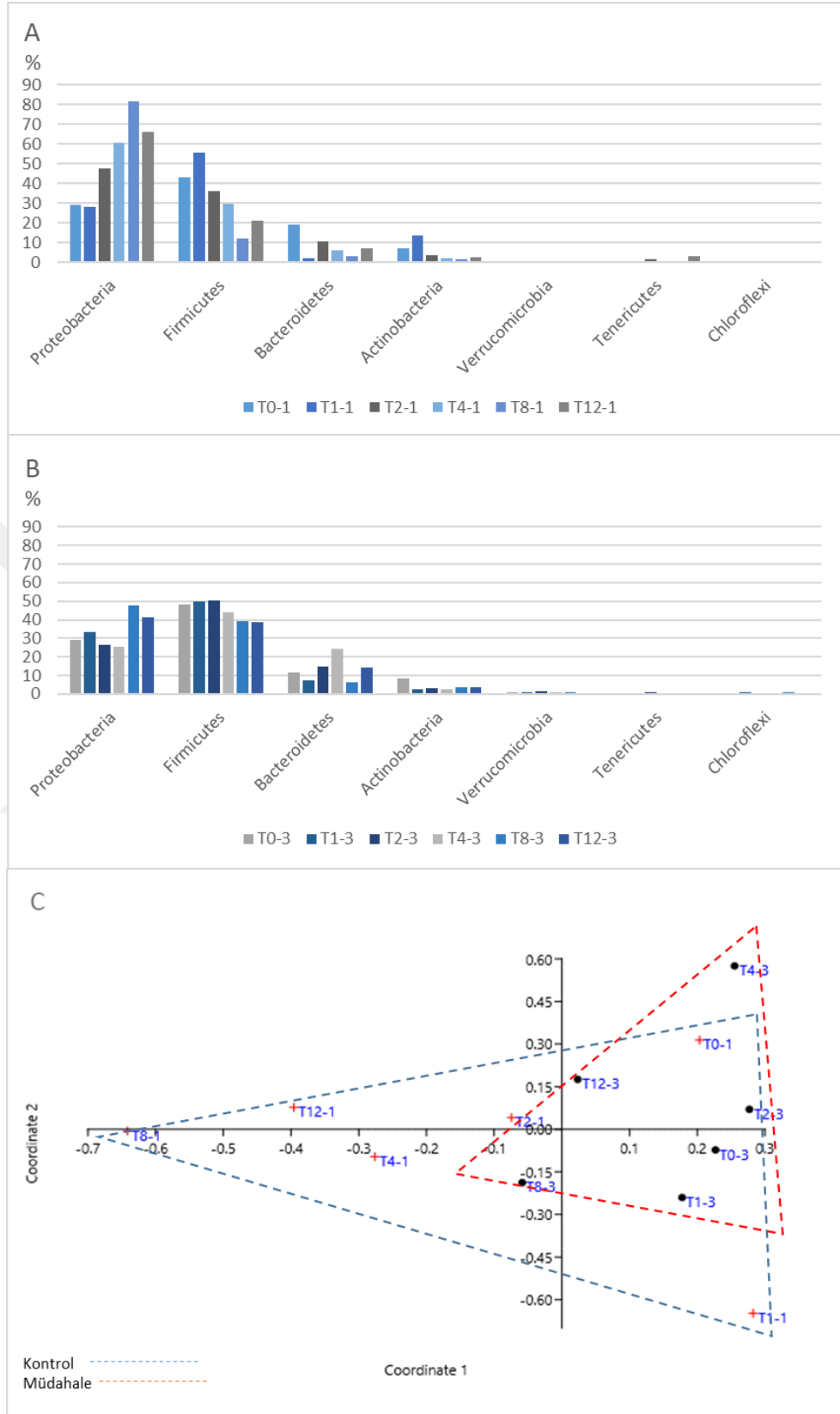
Firmicutes oranı, kontrol grubunda ilk haftanın sonunda artış gşstermesine karşın (%55,8), ikinci haftanın sonundan sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %35,9, %29,7 ve %12,2). Deney sonunda, *Firmicutes* oranlarında tekrar bir artış meydana gelmesine karşın (%20,9), başlangıç seviyesiyle kıyaslandığında, *Firmicutes* oranında yarıya yakın bir azalma gerçekteşmiştir. Mşdahale grubunda ise, *Firmicutes* oranında, ilk 2 hafta önemli bir değişim gşzlenmezken (sırası ile %50 ve %50,5), dşrdşncş haftanın sonundan on ikinci haftanın sonuna kadar kademeli bir dşşşş meydana gelmiştir (sırası ile %44,1, %39,3 ve %38,5). Deney sonunda *Firmicutes* oranı, başlangıç noktasına kıyasla önemli miktarda azalmıştır.

Bacteroidetes oranları, deney sşresi boyunca, hem kontrol grubunda hem de mşdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı dşşşşş

(%1,8), ikinci haftanın sonundaki dramatik artış takip ederken (%10,4), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda *Bacteroidetes* oranında kademeli bir düşüş meydana gelmiş (sırası ile %5,9 ve %3,2) ve on ikinci haftanın sonunda tekrar bir artış gerçekleşmiştir (%7). Müdahale grubunda ise, *Bacteroidetes* oranı, ilk haftanın sonunda bir miktar azalırken (%7,4), ikinci ve dördüncü haftaların sonunda kademeli bir artış göstermiştir (sırası ile %14,6 ve %24,3). Sekizinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösteren *Bacteroidetes* oranı (%6,3), on ikinci haftanın sonunda tekrar artarak %14,1 seviyesine çıkmıştır. Deney sonunda, başlangıç seviyesine kıyasla, kontrol grubunda yarıdan fazla bir düşüş meydana gelirken, müdahale grubunda bir miktar artış gözlenmiştir.

Actinobacteria oranında ise, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda bir artış meydana gelirken (%13,4), ikinci haftanın sonundan sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli bir düşüş gözlenmiştir (sırası ile %3,3, %2,1 ve %1,7). Deney sonunda tekrar bir artışla %2,6 seviyesine gelen *Actinobacteria* oranı, başlangıç noktasına kıyasla yarıdan fazla azalmıştır. Müdahale grubunda ise, *Actinobacteria* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir; ilk haftanın sonundaki dramatik düşüşü (%2,8), ikinci haftanın sonundaki hafif artış (%3,4) ve dördüncü haftanın sonundaki düşüş takip etmiştir (%2,5). Sekizinci haftanın sonunda tekrar artan *Actinobacteria* oranı (%3,5), on ikinci haftanın sonunda sabit kalmış, ancak başlangıç noktasına kıyasla yarıdan fazla azalmıştır.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana filumların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklerle (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.9-C). Buna göre, filum seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda filumlar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.9. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın sınıflar *Clostridia*, *Gammaproteobacteria*, *Bacilli*, *Bacteroidia* ve *Actinobacteria* olarak saptanmış, bu sınıfları, *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* takip etmiştir (Şekil3.10-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %31,4 *Bacilli*, %19,5 *Bacteroidia*, %15,8 *Clostridia*, %9,5 *Erysipelotrichi*, %9,4 *Actinobacteria*, %4,9 *Sphingobacteriia*, %3 *Gammaproteobacteria* ve %6,5 diğer sınıflar oluştururken; müdahale grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %43,4 *Bacilli*, %16,2 *Clostridia*, %11 *Actinobacteria*, %9,8 *Bacteroidia*, %5 *Sphingobacteriia*, %4,6 *Erysipelotrichi*, %2,2 *Gammaproteobacteria* ve %6,8 diğer sınıflar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Clostridia oranı, kontrol grubunda, ilk iki hafta kademeli bir artış göstererek (sırası ile %18,6 ve % 39,8) ikinci haftanın sonunda mikrobiyotadaki baskın sınıf haline gelmiştir. Dördüncü ve sekizinci haftanın sonunda ise kademeli olarak azalan *Clostridia* oranı (sırası ile %22,3 ve %11,5), deney sonunda hızlı bir artışla %20,7 seviyesine gelerek başlangıç noktasındaki nispi çokluğunun üzerine çıkmıştır. Müdahale grubunda ise, *Clostridia* oranı, ilk haftanın sonunda hızlı bir artış göstererek (%44,4) mikrobiyotadaki baskın sınıf haline gelmiş ve ikinci haftanın sonunda da oranı sabit kalmıştır. Bu noktadan sonra dalgalı bir seyir izleyen *Clostridia*, dördüncü haftanın sonunda azalmış (%33,1), sekizinci haftanın sonunda artmış (%40,9) ve on ikinci haftanın sonunda %31,4'e düşmüştür. Başlangıç noktasıyla kıyaslandığında ise deney sonunda yaklaşık iki katına çıkmıştır.

Gammaproteobacteria oranı, kontrol grubunda, başlangıç noktasından sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli bir artış göstermiştir (sırası ile %6, %25, %47,2 ve %68). Deney sonunda *Gammaproteobacteria*, T8 anındaki nispi oranına göre bir miktar azalmış olmasına karşın (%46,9), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede artmış ve T4 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur. Müdahale grubunda ise, *Gammaproteobacteria* oranı, birinci haftanın sonunda bir miktar artış göstermiş (%5,7) ve ikinci haftanın sonuna kadar bu oran sabit kalmıştır. Dördüncü haftanın sonunda hafif düzeyde azalan *Gammaproteobacteria* oranı (%5,2), sekizinci haftanın sonunda pik yaparak %18,1 seviyesine çıkmış ve mikrobiyotadaki en baskın ikinci sınıf haline gelmiştir. Deney sonunda *Gammaproteobacteria*, dramatik bir düşüşle %6,9 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık üç katına çıkmıştır.

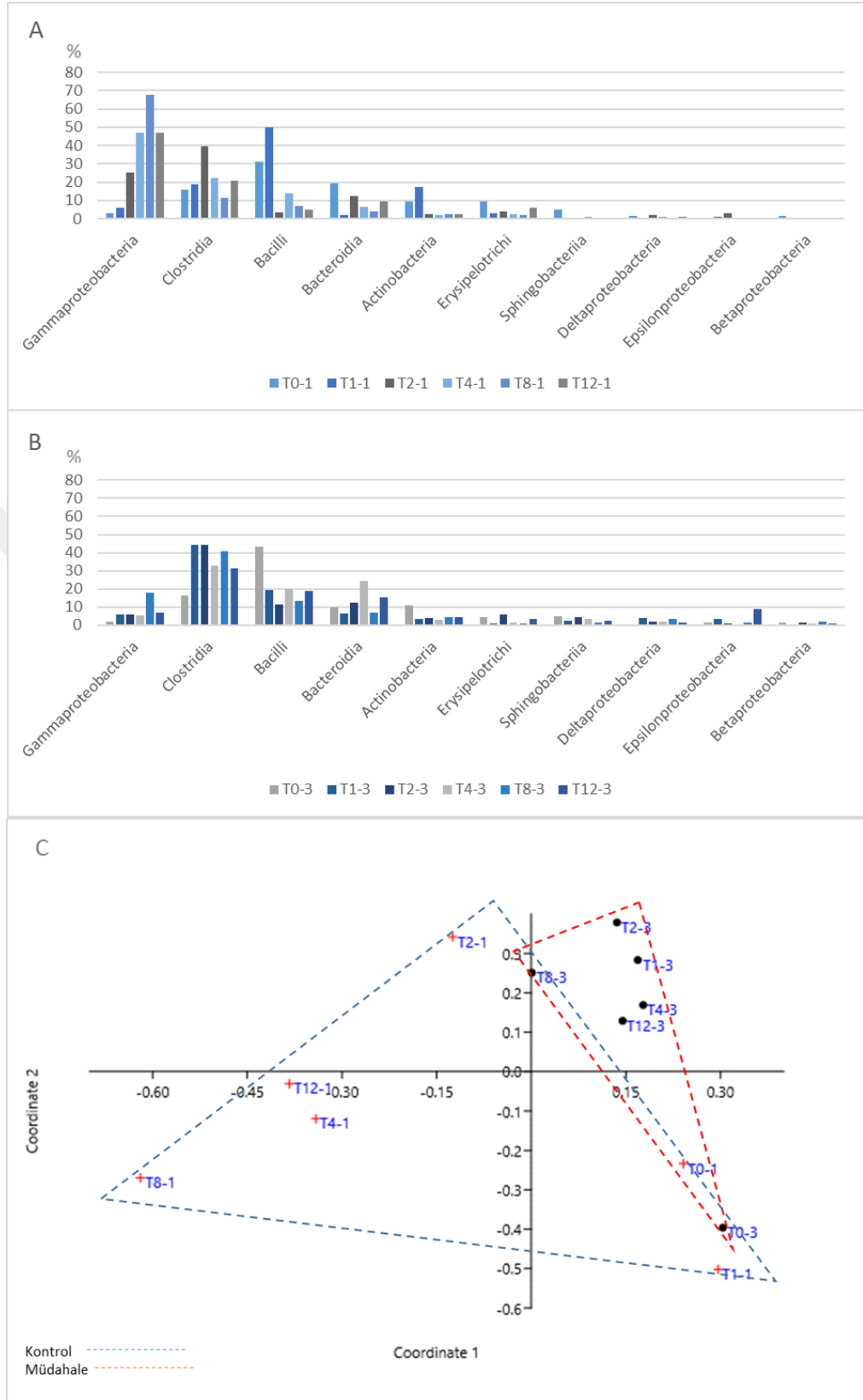
Bacilli oranı kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda pik yaparak %49,9'a çıkmıştır. İkinci haftanın sonunda ise dramatik bir düşüşle %3,5 seviyesine gerileyerek mikrobiyotadaki baskınlığını kaybetmiştir. Dördüncü haftanın sonunda tekrar artış göstermesine karşın *Bacilli* oranı, sekizinci ve on ikinci haftaların sonunda kademeli olarak azalarak (sırası ile %6,9 ve %5,1), başlangıç seviyesinin yaklaşık altıda birine kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise, *Bacilli* oranı, birinci ve ikinci haftaların sonunda kademeli olarak azalırken (sırası ile %19,2 ve %11,4), deneyin devamında inişli çıkışlı bir ilerleme göstermiştir. Buna göre, dördüncü haftanın sonundaki artışı (%19,7), sekizinci haftanın sonundaki düşüş (%13,3) ve on ikinci haftanın sonundaki artış (%18,7) takip etmiştir. Deney sonunda, başlangıç seviyelerine kıyasla, *Bacilli* oranı, yaklaşık üçte birine düşmüştür.

Bacteroidia oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,8) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%12,3) ve sonrasında sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %6,3 ve %4,2). Deney sonunda, *Bacteroidia* oranı, hızlı bir artışla %9,6 seviyesine çıkmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık yarısına düşmüştür. Müdahale grubunda ise *Bacteroidia* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%6,6), ikinci haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli bir artış meydana gelmiştir (sırası ile %12,5 ve %24,4). Sekizinci haftanın sonunda dramatik bir düşüşle %7,1 seviyesine gerileyen *Bacteroidia* oranı, on ikinci haftanın sonunda yeniden artarak %15,2 seviyesine çıkmıştır. Başlangıç noktasıyla kıyaslandığında, deney sonunda *Bacteroidia* oranı, yaklaşık 1,5 katına çıkmıştır.

Actinobacteria oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda, dalgalı bir seyir izlemiş olmasına karşın, genel olarak düşme yönünde bir eğilim göstermiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki artışı (%17,2), ikinci haftanın sonundaki dramatik düşüş takip etmiş (%2,5) ve dördüncü haftanın sonunda da bu düşüş trendi devam etmiştir (%2,3). Sekizinci haftanın sonunda hafif bir artış meydana gelmiş olmasına karşın (%2,6), deney sonunda bu oran sabit kalmış ve başlangıç noktasına kıyasla *Actinobacteria* oranı yaklaşık üçte birine düşmüştür. Müdahale grubunda ise, *Actinobacteria* oranında, ilk haftanın sonundaki dramatik düşüşü (%3,4) sırası ile hafif bir artış (%3,9) ve tekrar bir düşüş (%2,9) takip etmiştir. Sekizinci haftanın sonunda tekrar artan *Actinobacteria* oranı (%4,3), on ikinci haftanın sonunda sabit kalmış ve başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık yarısına düşmüştür.

Başlangıç noktasında nispi çokluğu, diğer sınıflara göre görece yüksek olan *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* sınıflarının oranları ise, deney süresi boyunca iki grupta da inişli çıkışlı bir ilerleme göstermiştir. *Erysipelotrichi* oranı, deney sonunda kontrol grubunda %5,7; müdahale grubunda ise %3,2 seviyesine gerileyerek iki grupta da başlangıç seviyesine göre düşüş göstermiştir. *Sphingobacteriia* oranı ise, deney sonunda kontrol grubunda %0,7; müdahale grubunda ise %2,4 seviyesine gerileyerek *Erysipelotrichi* oranına benzer şekilde, iki grupta da başlangıç seviyesinin altında kalmıştır.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana sınıfların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklere (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.10-C). Buna göre, sınıf seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda sınıflar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.10. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın takımlar *Clostridiales*, *Enterobacteriales*, *Lactobacilliales* ve *Bacteroidales* olarak saptanmış, bu takımları, *Bacilliales*, *Erysipelotrichales*, *Bifidobacteriales* ve *Spingobacteriales* takip etmiştir (Şekil3.11-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %19,8 *Lactobacilliales*, %19,7 *Bacteroidales*, %14,9 *Clostridiales*, %10,9 *Bacilliales*, %9,6 *Erysipelotrichales*, %7,5 *Bifidobacteriales* %4,9 *Spingobacteriales*, %2 *Actinomycetales* ve %10,7 diğer takımlar oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %25,7 *Lactobacilliales*, %15,8 *Bacilliales*, %15,6 *Clostridiales*, %10,1 *Bacteroidales*, %10 *Bifidobacteriales*, %5,3 *Spingobacteriales*, %4,7 *Erysipelotrichales* ve %12,8 diğer takımlar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Clostridiales oranları, deney süresi boyunca, hem kontrol grubunda hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, birinci ve ikinci haftaların sonundaki kademeli artışla birlikte baskın takım haline gelen *Clostridiales* (sırası ile %18,3 ve %36,6), dördüncü ve sekizinci haftaların sonunda kademeli olarak azalmıştır (sırası ile % 20,5 ve %10,8). Deney sonunda ise, tekrar bir artışla %19,4 seviyesine yükselerek, başlangıç seviyesine kıyasla nispeten artış göstermiştir. Müdahale grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı artışla (%44) birlikte baskın takım haline gelen *Clostridiales*, ikinci ve dördüncü haftaların sonunda kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %43,1 ve %32,9). Sekizinci haftanın sonunda artan *Clostridiales*'in nispi çokluğu (%39), deney sonunda tekrar azalarak %30,5 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç seviyesinin yaklaşık iki katına çıkmış ve T1 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur.

Enterobacteriales oranları, her iki grupta da T0 anında %2'nin altında olmasına karşın, deney süresi boyunca farklı zaman noktalarında mikrobiyotada baskınlık göstermiştir. Kontrol grubunda *Enterobacteriales* oranı, başlangıç noktasından sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artmıştır (sırası ile %2, %24,4, %45,4 ve %64,8). Deney sonunda *Enterobacteriales*, T8 anındaki nispi oranına göre bir miktar azalmış olmasına karşın (%44,5), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede artmış ve T4 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur. Müdahale grubunda ise, *Enterobacteriales* oranı, birinci haftanın sonunda bir miktar artış göstermiş (%3) ve ikinci haftanın sonuna kadar bu oran sabit kalmıştır. Dördüncü haftanın sonunda hafif düzeyde azalan *Enterobacteriales* (%2,4), sekizinci haftanın sonunda pik yaparak %12,2 seviyesine çıkmış ve mikrobiyotadaki en baskın ikinci takım

haline gelmiştir. Deney sonunda *Enterobacteriales*, dramatik bir düşüşle %5,1 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık beş katına çıkmıştır.

Lactobacilliales oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı artışı (%44,6), ikinci haftanın sonundaki dramatik düşüş (%2,8) takip etmiştir. Dördüncü haftanın sonunda tekrar artış gösteren *Lactobacilliales* (%13,2), bu noktadan sonra kademeli olarak azalarak (sırası ile %4,4 ve %4,1) deney sonunda, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık beşte birine kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise, ilk iki haftanın sonundaki kademeli düşüş trendini (sırası ile %14,1 ve %10,1), dördüncü haftanın sonundaki artış (%16,4) ve sekizinci haftanın sonundaki dramatik düşüş (%10) takip etmiştir. Deney sonunda *Lactobacilliales* oranı, tekrar yükselerek %16,6 seviyesine çıkmış olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık üçte ikisine kadar düşmüştür.

Bacteroidales oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,8) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%12,5) ve sonrasında sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %6,4 ve %4,4). Deney sonunda, *Bacteroidales* oranı, hızlı bir artışla %10 seviyesine çıkmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık yarısına düşmüştür. Müdahale grubunda ise *Bacteroidales* oranında ilk haftanın sonunda hafif bir azalma gözlemlenirken (%6,9), ikinci haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli bir artış meydana gelmiştir (sırası ile %12,7 ve %25,1). Sekizinci haftanın sonunda dramatik bir düşüşle %7,4 seviyesine gerileyen *Bacteroidales* oranı, on ikinci haftanın sonunda yeniden artarak %15,8 seviyesine çıkmıştır. Başlangıç noktasıyla kıyaslandığında, deney sonunda *Bacteroidales* oranı, yaklaşık 1,5 katına çıkmıştır.

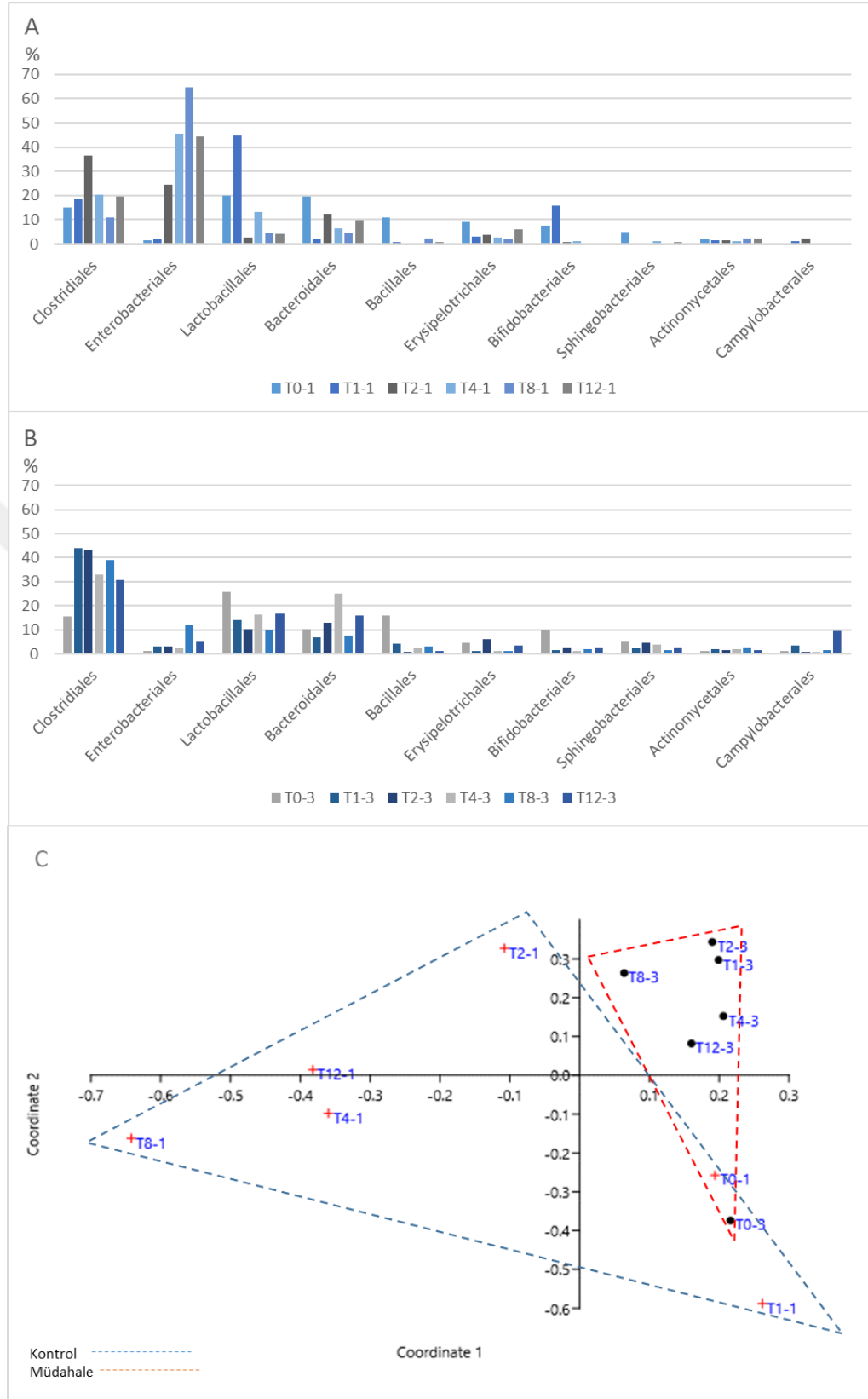
Bacilliales oranları, iki grupta da deney süresince benzer bir seyir izlemiştir. İlk haftanın sonunda, hem kontrol hem de müdahale grubunda dramatik bir düşüş meydana gelmiş (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,9 ve %4), ikinci haftanın sonunda ise gruplardaki düşüş trendi devam etmiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,4 ve %0,7). Dördüncü haftanın sonunda, kontrol grubunda *Bacilliales* oranı sabit kalırken, müdahale grubunda bir miktar artış (%2,4) meydana gelmiştir. Sekizinci ve on ikinci haftalarda ise, gruplardaki *Bacilliales* oranlarında sırası ile bir artış (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %2,3 ve %3,1) ve düşüş (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,9 ve %1,3) meydana

gelmiştir. Deney sonunda, başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, her iki grupta da *Bacilliales* oranları önemli ölçüde azalmıştır.

Numuneler arasında yaygın olarak gözlenen bir diğer takım olan *Bifidobacteriales*, hem kontrol hem de müdahale grubunda, deney süresi boyunca genel olarak azalma eğilimi göstermiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda *Bifidobacteriales* oranında bir pik meydana gelmiş olmasına karşın (%15,9), ikinci haftanın sonunda dramatik bir düşüş gerçekleşmiştir (%1). Daha sonra dördüncü haftanın sonunda meydana gelen hafif artışı (%1,2), sekizinci haftanın sonundaki düşüş takip etmiş (%0,3) ve *Bifidobacteriales* oranı, deney sonuna kadar bu noktada sabit kalmıştır. Müdahale grubunda ise, *Bifidobacteriales* oranında, ilk haftanın sonundaki dramatik düşüşü (%1,6) sırası ile hafif bir artış (%2,6) ve tekrar bir düşüş (%1) takip etmiştir. Bu noktadan sonra kademeli olarak artan *Bifidobacteriales* (%1,8), on ikinci haftanın sonunda %2,7 seviyesine yükselmesine karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık üçte birine düşmüştür.

Yaygın takımlar arasında yer alan *Sphingobacteriales* ve *Erysipelotrichales* oranları ise, hem müdahale hem de kontrol grubunda, zaman içerisinde artış gösterdikleri noktalar olmasına karşın, genel olarak düşüş trendi göstermiştir. *Sphingobacteriales* oranları deney sonunda, kontrol grubunda %0,7 seviyelerine kadar inerken, müdahale grubunda %2,5 seviyesine düşmüştür. *Erysipelotrichales* oranları ise deney sonunda, kontrol grubunda %5,9 seviyelerine kadar inerken, müdahale grubunda %3,3 seviyesine düşmüştür.

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana takımların göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklerle (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir (Şekil 3.11-C). Buna göre, takım seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda takımlar arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.11. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 10 takım. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın familyalar *Lactobacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae* ve *Clostridiaceae* olarak saptanmış, bu familyaları, *Bacteroidaceae*, *Veillonellaceae*, *Erysipelotrichaceae* ve *Bifidobacteriaceae* izlemiştir (Şekil3.12-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %17,8 *Lactobacillaceae*, %10 *Erysipelotrichaceae*, %10 *Staphylococcaceae*, %8,9 *Bacteroidaceae*, %7,8 *Bifidobacteriaceae*, %5,6 *Prevotellaceae*, %5,2 *Lachnospiraceae*, %5 *Sphingobacteriaceae*, %2,3 *Veillonellaceae*, %2,3 *Ruminococcaceae* ve %25,1 diğer familyalar oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %25,1 *Lactobacillaceae*, %10,3 *Bifidobacteriaceae*, %6,9 *Bacillaceae*, %6,6 *Paenibacillaceae*, %6 *Veillonellaceae*, %5,8 *Clostridiaceae*, %5,2 *Sphingobacteriaceae* %4,8 *Erysipelotrichaceae*, %3 *Bacteroidaceae*, %2,6 *Odoribacteraceae*, %2 *Staphylococcaceae* ve %21,7 diğer familyalar oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Lactobacillaceae oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı artışı (%39,8), ikinci haftanın sonundaki dramatik düşüş (%2,2) ve dördüncü haftanın sonundaki artış takip etmiştir (%7). Sekizinci haftanın sonunda %1,2 seviyesine kadar gerileyen *Lactobacillaceae* oranı, on ikinci haftanın sonunda hafif bir artışla %1,9'a çıkmış olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede azalmıştır. Müdahale grubunda ise, ilk iki haftanın sonundaki kademeli düşüş trendini (sırası ile %12,7 ve %6,7), dördüncü haftanın sonundaki artış (%13,9) ve sekizinci haftanın sonundaki dramatik düşüş takip etmiştir (%4,2). Deney sonunda *Lactobacillaceae* oranı, tekrar yükselerek %13,2 seviyesine çıkmış olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık yarısına kadar düşmüştür.

Enterobacteriaceae oranları, her iki grupta da T0 anında %2'nin altında olmasına karşın, deney süresi boyunca farklı zaman noktalarında mikrobiyotada baskınlık göstermiştir. Kontrol grubunda *Enterobacteriaceae* oranı, başlangıç noktasından sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artmıştır (sırası ile %2, %24,9, %46 ve %65,6). Deney sonunda *Enterobacteriaceae*, T8 anındaki nispi oranına göre bir miktar azalmış olmasına karşın (%45,3), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede artmış ve T4 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur. Müdahale grubunda *Enterobacteriaceae* oranı, birinci haftanın sonunda bir miktar artış göstermiş (%3,2) ve ikinci haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %3 ve %2,5). Sekizinci haftanın sonunda ise pik yaparak %12,8 seviyesine çıkmış ve mikrobiyotadaki en baskın ikinci

familiya haline gelmiştir. Deney sonunda *Enterobacteriaceae*, dramatik bir düşüşle %5,4 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık beş katına çıkmıştır.

Lachnospiraceae oranı, kontrol grubunda ilk haftanın sonundaki hafif düşüşü takiben ikinci haftanın sonunda %27,1 seviyesine çıkarak mikrobiyotadaki baskın familiya haline gelmiştir. Dördüncü haftanın sonundan sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalan (sırası ile %11,8 ve %2,7) *Lachnospiraceae* oranı, deney sonunda hızlı bir artışla %12,7 seviyesine gelerek, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık iki buçuk katına çıkmıştır. Müdahale grubunda ise *Lachnospiraceae* oranı, ilk haftanın sonunda pik yaparak baskın familiya haline gelmiş (%19,4), bu noktadan sonra ise dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %7,3 ve %5,4). Sekizinci haftanın sonunda %8,6'ya çıkan *Lachnospiraceae* oranı, deney sonunda tekrar azalarak %7,8 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık dört katına çıkmıştır.

Clostridiaceae oranı, kontrol grubunda ilk haftanın sonunda pik yaparak %10,4 seviyesine çıkmış ve bu noktadan sonra genel olarak azalma eğilimi göstermiştir. İkinci haftanın sonunda %3,5 seviyesine düşen *Clostridiaceae* oranı, dördüncü haftanın sonuna dek sabit kalmış ve sekizinci haftanın sonunda %2,3'e kadar düşmüştür. On ikinci haftanın sonunda %3,6 seviyesine tekrar çıkan *Clostridiaceae*, başlangıç noktasına kıyasla deney sonunda hafif bir artış göstermiştir. Müdahale grubunda ise *Clostridiaceae* oranı, deney süresi boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir; ilk haftanın sonundaki artışı (%8,1), ikinci haftanın sonundaki düşüş (%5,8) ve dördüncü haftanın sonundaki artış takip etmiştir (%13). Bu noktadan sonra kademeli olarak azalmış olmasına karşın (sırası ile %7,7 ve %6,3), *Clostridiaceae* oranı, deney sonunda başlangıç noktasına kıyasla hafif bir artış göstermiştir.

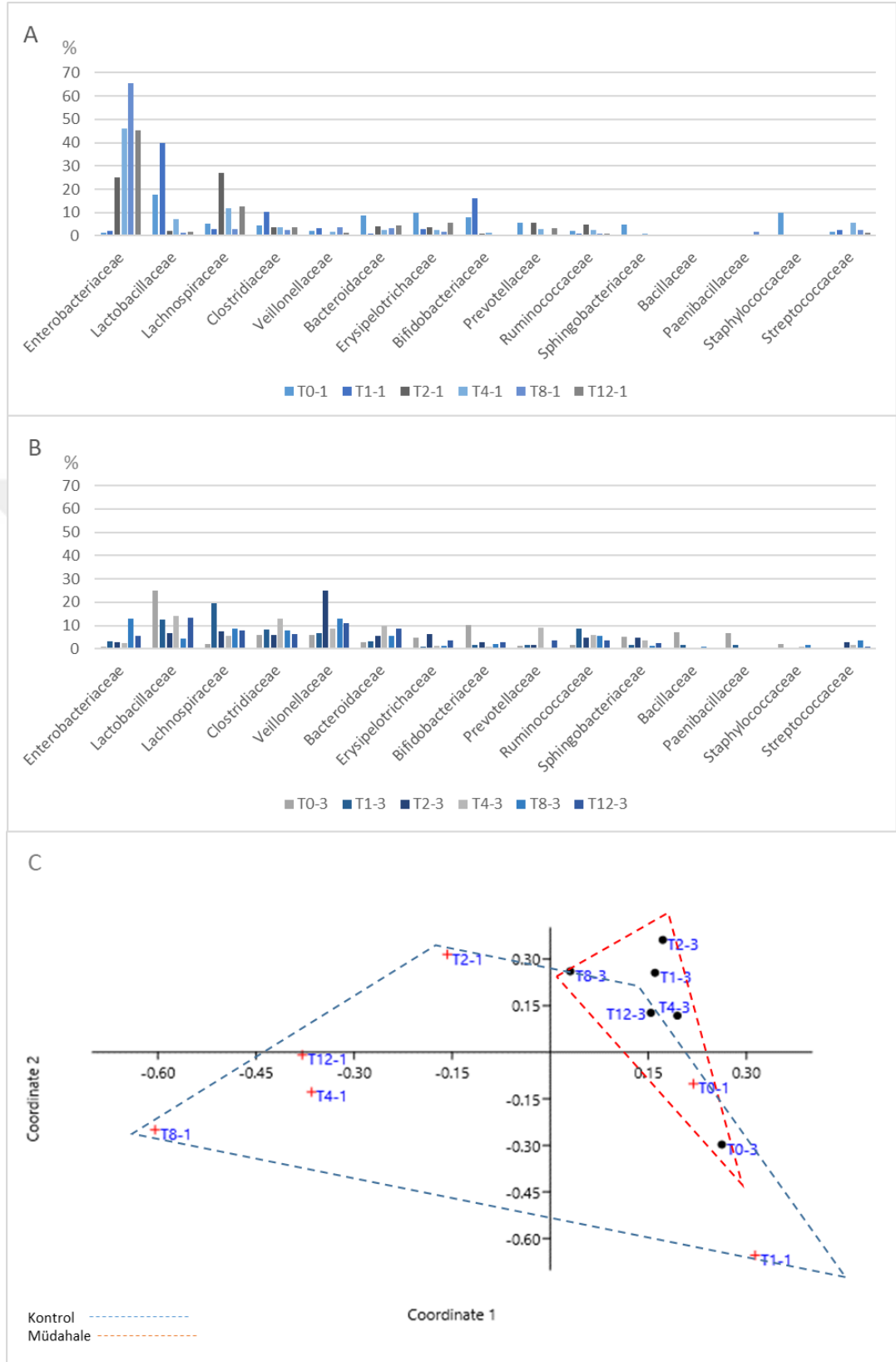
Bacteroidaceae oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,1) ikinci haftanın sonunda yükselişe geçmiş (%4) ve dördüncü haftanın bitimiyle tekrar gerileme göstermiştir (%2,4). *Bacteroidaceae* oranı, sekizinci haftanın sonundan itibaren kademeli olarak artmasına karşın (sırası ile %3,2 ve %4,6), deney sonunda, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık yarısına kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise *Bacteroidaceae* oranında ilk haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli bir artış gözlemlenmiştir (sırası ile %3,2, %5,4 ve %9,6). Sekizinci haftanın sonunda *Bacteroidaceae* oranı yaklaşık yarı yarıya azalmasına karşın (%5,4), on ikinci haftanın

sonunda tekrar artarak %8,7 seviyesine çıkmış ve başlangıç noktasına kıyasla nispi çokluğunu yaklaşık üçe katlamıştır.

Veillonellaceae oranı, kontrol grubunda ilk haftanın sonunda hafifçe artmış (%3,4), ikinci haftanın sonunda ise dramatik bir düşüşle %1'in altına inmiştir. Bu noktadan itibaren sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artan *Veillonellaceae* (sırası ile %1,6 ve %3,5), deney sonunda tekrar düşerek %1,5 seviyesine inmiş ve başlangıç noktasına kıyasla bir miktar azalmıştır. Müdahale grubunda ise *Veillonellaceae* oranı, ilk haftanın sonunda hafifçe artmış (%6,9) ve ikinci haftanın sonunda pik yaparak mikrobiyotadaki baskın aileye haline gelmiştir (%24,9). Bu noktadan itibaren dalgalı bir seyir izleyen *Veillonellaceae* oranı, dördüncü haftanın sonunda dramatik bir düşüşle %8,7 seviyesine gerilemiş ve sekizinci haftanın sonunda tekrar artarak %12,9'a çıkmıştır. Deney sonunda tekrar düşerek %11,1'e gerilemiş olmasına karşın *Veillonellaceae*, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık iki katına ulaşmıştır.

Erysipelotrichaceae ve *Bifidobacteriaceae* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda, *Erysipelotrichaceae* oranları, kontrol grubunda yaklaşık yarısına kadar inerken, müdahale grubunda hafifçe azalmıştır (sırası ile %5,6 ve %3,5). Bununla birlikte, *Bifidobacteriaceae* oranları, gruplarda, başlangıç seviyelerine göre önemli miktarda düşüş göstermiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,4 ve %2,9).

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana ailelerin göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklerle (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir. (Şekil 3.12-C). Buna göre, aile seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda aileler arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.12. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 15 familya. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın cinsler *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Blautia*, *Bacteroides* ve *Veillonella* olarak saptanmış, bu cinsleri, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Allobaculum*, *Clostridium* ve *Pediococcus* izlemiştir (Şekil3.13-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %14,3 *Lactobacillus*, %10,3 *Allobaculum*, %10,1 *Staphylococcus*, %9,3 *Bacteroides*, %8,2 *Bifidobacterium*, %5,9 *Prevotella*, %4,4 *Blautia*, %3,2 *Pediococcus*, %2,4 *Olivibacter*, %2,1 *Clostridium* ve %29,8 diğer cinsler oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %19,8 *Lactobacillus*, %10,7 *Bifidobacterium*, %7,1 *Bacillus*, %6,6 *Paenibacillus*, %5,5 *Veillonella*, %5,3 *Pediococcus*, %5 *Allobaculum*, %3,5 *Alkaliphilus*, %3,1 *Bacteroides* %2,9 *Olivibacter*, %2,4 *Butyricimonas* ve %28,1 diğer cinsler oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

Lactobacillus oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda, ilk haftanın sonundaki hızlı artışı (%30,8), ikinci haftanın sonundaki dramatik düşüş (%2,1) ve dördüncü haftanın sonundaki artış takip etmiştir (%5,6). Sekizinci haftanın sonunda %1,3 seviyesine kadar gerileyen *Lactobacillus* oranı, on ikinci haftanın sonunda hafif bir artışla %1,6'ya çıkmış olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede azalmıştır. Müdahale grubunda ise, ilk iki haftanın sonundaki kademeli düşüş trendini (sırası ile %10,1 ve %5,4), dördüncü haftanın sonundaki artış (%10,7) ve sekizinci haftanın sonundaki dramatik düşüş takip etmiştir (%3,7). Deney sonunda *Lactobacillus* oranı, tekrar yükselerek %12 seviyesine çıkmış olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık üçte ikisine kadar düşmüştür.

Escherichia oranları, her iki grupta da T0 anında %2'nin altında olmasına karşın, deney süresi boyunca farklı zaman noktalarında mikrobiyotada baskınlık göstermiştir. Kontrol grubunda *Escherichia* oranı, başlangıç noktasından sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artmıştır (sırası ile %0,7, %23,7, %30,1 ve %39,9). Deney sonunda *Escherichia*, T8 anındaki nispi oranına göre bir miktar azalmış olmasına karşın (%25,5), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede artmış ve T2 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur. Müdahale grubunda *Escherichia* oranı, birinci haftanın sonunda bir miktar artış göstermiş (%1,2) ve ikinci haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar bu oranda önemli bir değişim gerçekleşmemiştir. Sekizinci haftanın sonunda ise pik yaparak %5,9 seviyesine çıkmış ve mikrobiyotadaki en baskın üçüncü cins haline gelmiştir. Deney sonunda *Escherichia*, dramatik bir düşüşle %2,3 seviyesine gerilemiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık dört buçuk katına çıkmıştır.

Blautia oranı, kontrol grubunda deney süresi boyunca inişli çıkışlı bir eğilim göstermiştir; ilk haftanın sonundaki düşüşü (%2,1), ikinci haftanın sonundaki hızlı artış (%21,1) ve dördüncü ve sekizinci haftaların sonundaki kademeli düşüş takip etmiştir (sırası ile %13 ve %3). Deney sonunda *Blautia* oranı, %14,5 seviyesine yükselerek başlangıç noktasındaki değerin yaklaşık üç katına çıkmıştır. Müdahale grubunda ise *Blautia* oranı, ilk haftanın sonunda hızlı bir artış (%15,8) göstererek mikrobiyotadaki baskın cins haline gelmiş olmasına karşın, bu noktadan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %6,9 ve %4,4). Sekizinci haftanın sonunda tekrar yükselerek %6,6'ya çıkan gelen *Blautia* oranı, on ikinci haftanın sonunda aynı değeri korumuş ve başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık dört buçuk katına çıkmıştır.

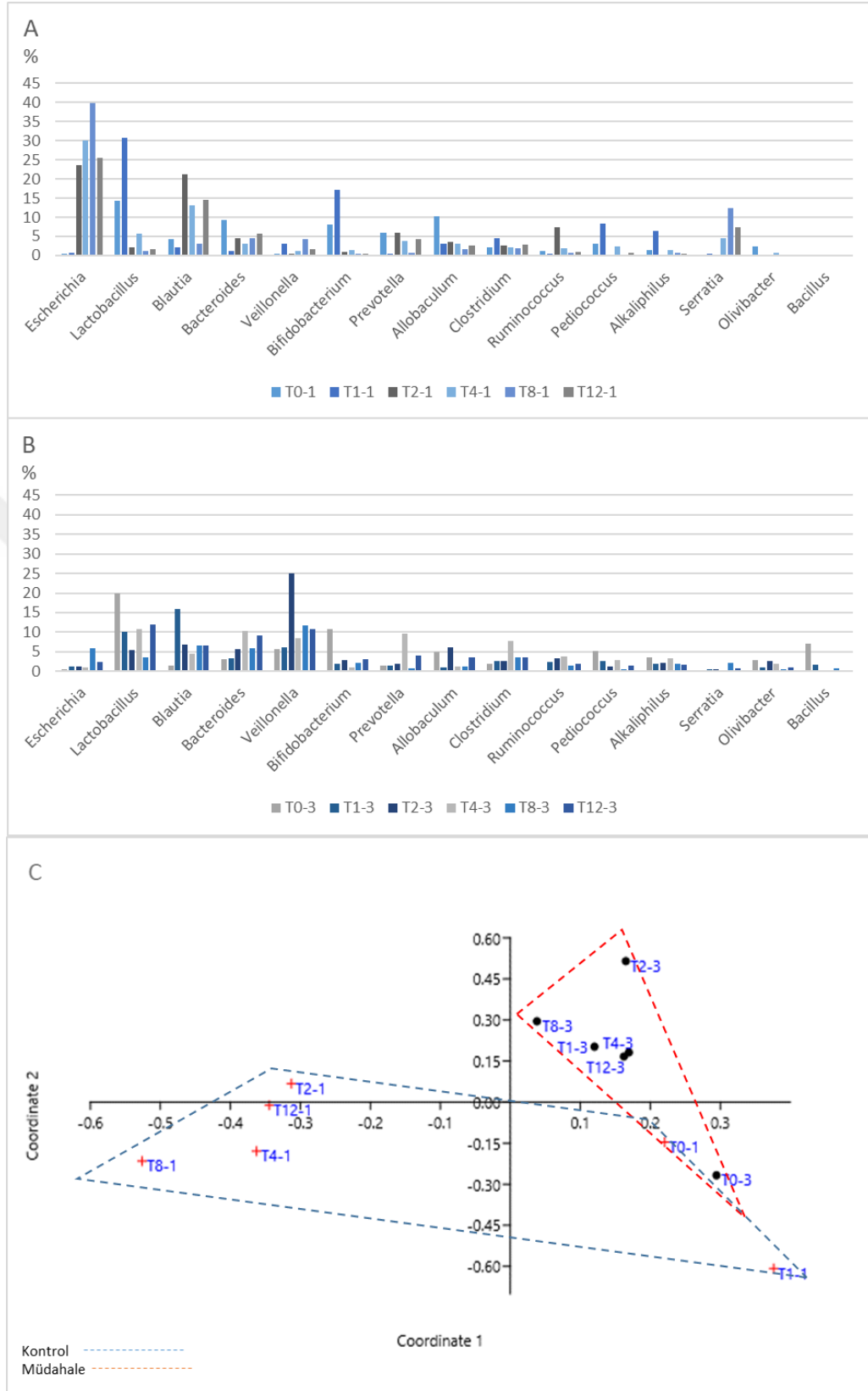
Bacteroides oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%1,1) ikinci haftanın sonunda yükselişe geçmiş (%4,5) ve dördüncü haftanın bitimiyle tekrar gerileme göstermiştir (%3). *Bacteroides* oranı, sekizinci haftanın sonundan itibaren kademeli olarak artmasına karşın (sırası ile %4,4 ve %5,7), deney sonunda, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık üçte ikisine kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise *Bacteroides* oranında ilk haftanın sonundan dördüncü haftanın sonuna kadar kademeli bir artış gözlemlenmiştir (sırası ile %3,4, %5,7 ve %10,3). Sekizinci haftanın sonunda *Bacteroides* oranı bir miktar azalmasına karşın (%6), on ikinci haftanın sonunda tekrar artarak %9,3 seviyesine çıkmış ve başlangıç noktasına kıyasla nispi çokluğunu yaklaşık üçe katlamıştır.

Veillonella oranı, kontrol grubunda ilk haftanın sonunda hafifçe artmış (%3,1), ikinci haftanın sonunda ise dramatik bir düşüşle %1'in altına inmiştir. Bu noktadan itibaren sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artan *Veillonella* (sırası ile %1,1 ve %4,4), deney sonunda tekrar düşerek %1,8 seviyesine inmiş olmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla bir miktar artmıştır. Müdahale grubunda ise *Veillonella* oranı, ilk haftanın sonunda hafifçe artmış (%6,2) ve ikinci haftanın sonunda pik yaparak mikrobiyotadaki baskın cins haline gelmiştir (%25,1). Bu noktadan itibaren dalgalı bir seyir izleyen *Veillonella* oranı, dördüncü haftanın sonunda dramatik bir düşüşle %8,3 seviyesine gerilemiş ve sekizinci haftanın sonunda tekrar artarak %11,8'e çıkmıştır. Deney sonunda tekrar düşerek %10,8'e gerilemiş olmasına karşın *Veillonella*, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık iki katına ulaşmıştır.

Bifidobacterium, *Prevotella*, *Allobaculum*, *Clostridium* ve *Pediococcus* oranları, hem kontrol hem de müdahale grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. Başlangıç seviyeleriyle kıyaslandığında, deney sonunda *Bifidobacterium* oranları, gruplarda, başlangıç seviyelerine

göre önemli miktarda düşüş göstermiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %0,4 ve %3). *Allobaculum* ve *Pediococcus* cinslerinin nispi çokluğu da, benzer şekilde başlangıç seviyelerine kıyasla, deney sonunda azalma göstermiştir (kontrol grubu için sırası ile %2,5 ve %0,6; müdahale grubu için sırası ile %3,5 ve %1,4). Bununla birlikte, *Clostridium* oranları, deney sonunda, her iki grupta da artarak kontrol grubunda %2,8, müdahale grubunda %3,5 seviyesine çıkmıştır. *Prevotella* oranları ise kontrol grubunda azalırken, müdahale grubunda artış göstermiştir (kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %4,3 ve %4).

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana cinslerin göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklerle (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir. (Şekil 3.13-C). Buna göre, cins seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda cinsler arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.13. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 15 cins. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

Kontrol ve müdahale grubunda yer alan dişi sıçanların dışkı numunelerinde, baskın türler *E.albertii*, *V.criceti*, *A.stercoricanis*, *B.choerinum* ve *S.entomophila* olarak saptanmış, bu türleri, *B.coccoides*, *P.argentinicus*, *L.johnsonii*, *L.ultinensis* ve *Lactobacillus hayakitens* izlemiştir (Şekil3.14-A/B). Kontrol grubunda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını, %15,8 *A.stercoricanis*, %9,1 *B.choerinum*, %5,3 *L.ultinensis*, %4,7 *P.argentinicus*, %2,9 *L.johnsonii*, %2,6 *B.coccoides*, %2,3 *Paraprevotella clara*, %2,3 *L.antri* ve %55 diğer türler oluşturmaktadır. Müdahale grubunda ise, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasını %11,1 *B.choerinum*, %9,3 *Paenibacillus cellulosilyticus*, %9,2 *L.ultunensis*, %6,9 *A.stercoricanis*, %6,7 *V.criceti*, %4,4 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %4 *Pediococcus cellicola*, %3,2 *P.argentinicus*, %2,9 *L.acidophilus*, %2,3 *L.johnsonii*, %2,1 *Butyricimonas virosa*, %2,1 *Lactobacillus gigeriorum* ve %35,8 diğer türler oluşturmaktadır. Bu oranlar, sıçanlar yaş aldıkça önemli ölçüde değişim göstermiştir.

E.albertii oranları, her iki grupta da T0 anında %2'nin altında olmasına karşın, deney süresi boyunca farklı zaman noktalarında mikrobiyotada baskınlık göstermiştir. Kontrol grubunda *E.albertii* oranı, başlangıç noktasından sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artmıştır (sırası ile %0,8, %31,7, %38,8 ve %46,8). Deney sonunda ise *E.albertii*, T8 anındaki nispi oranına göre bir miktar azalmış olmasına karşın (%36,1), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede yükselmiş ve T2 anından itibaren mikrobiyotadaki baskınlığını korumuştur. Müdahale grubunda *E.albertii* oranı, birinci haftanın sonunda bir miktar artış göstermiş (%1,9), ikinci haftanın sonunda azalmış (%1,5) ve dördüncü haftanın sonuna kadar önemli bir değişim göstermemiştir. Sekizinci haftanın sonunda pik yaparak %8,7 seviyesine çıkan *E.albertii*, mikrobiyotadaki en baskın ikinci tür haline gelmiş, ancak deney sonunda dramatik bir düşüşle %3,4 seviyesine gerilemiştir. Buna karşın, başlangıç noktasına kıyasla önemli bir artış göstermiştir.

V.criceti, kontrol grubunda başlangıç noktasında %2'nin altında olmasına karşın (%0,4), T1 ve T8 zaman noktalarında nispi çokluğu %3,8'e ulaşmış, ancak deney sonunda, bu oran tekrar %2'nin altına inmiştir. Müdahale grubunda ise, *V.criceti* oranı, başlangıç noktasından ikinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak artmış (sırası ile %8,7 ve %29,6) ve T2 anında mikrobiyotadaki baskın tür haline gelmiştir. Bu noktadan itibaren inişli çıkışlı bir seyir izleyen *V.criceti*, dördüncü haftanın sonunda dramatik bir düşüşle %10,7'ye gerilemiş, sekizinci haftanın sonunda ise bir miktar artarak %12,7'ye çıkmıştır. Deney sonunda %12,4'e gerileyen *V.criceti* oranı, başlangıç noktasıyla kıyaslandığında yaklaşık iki katına ulaşmıştır.

A.stercoricanis oranı, kontrol grubunda, ilk haftanın sonunda dramatik bir düşüş gösterirken (%4,2) ikinci haftanın sonunda tekrar yükselişe geçmiş (%5,7) ve bu noktadan sekizinci haftanın sonuna kadar kademeli olarak azalmıştır (sırası ile %3,8 ve %1,9). Deney sonunda %3,8 seviyesine tekrar yükselmesine karşın, başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık dörtte birine kadar düşmüştür. Müdahale grubunda ise *A.stercoricanis* oranları dalgalı bir seyir izlemiştir; ilk haftanın sonundaki dramatik düşüşü (%1,7), ikinci haftanın sonundaki hızlı artış (%8,4) takip etmiş, dördüncü haftanın sonunda ise *A.stercoricanis* tekrar %1,7 seviyesine düşmüş ve sekizinci haftanın sonuna kadar önemli bir değişim göstermemiştir. Deney sonunda %5 seviyesine çıkmasına karşın, başlangıç noktasına kıyasla *A.stercoricanis* oranı bir miktar azalmıştır.

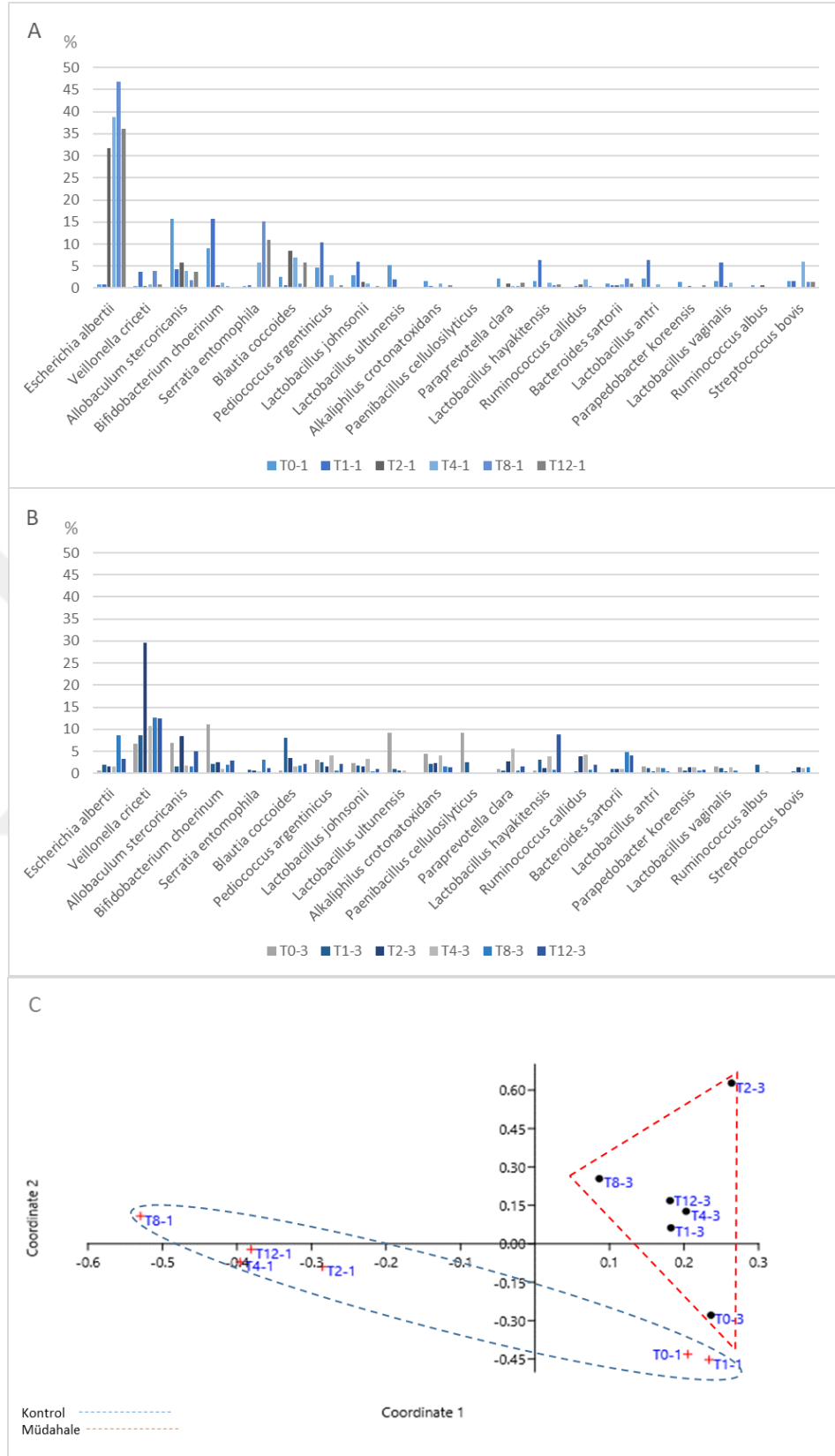
B.choerinum oranları, iki grupta da dalgalı bir seyir izlemesine karşın deney süresi boyunca genel olarak düşme eğilimi göstermiştir. Kontrol grubunda ilk haftanın sonunda artan *B.choerinum* oranı, ikinci haftanın sonunda %0,7 seviyesine kadar düşmüş ve daha sonra dördüncü haftanın sonunda tekrar bir miktar artmıştır (%1,2). T4'ten deney sonuna kadar kademeli olarak düşüş gösteren *B.choerinum* oranı (sırası ile %0,4 ve %0,2), başlangıç noktasına kıyasla önemli derecede azalmıştır. Müdahale grubunda ise, ilk haftanın sonundaki hızlı düşüşü (%2,1), ikinci haftanın sonundaki hafif artış izlemiş (%2,6) ve dördüncü haftanın sonunda tekrar bir düşüş meydana gelmiştir (%1). Bu noktadan deney sonuna kadar kademeli olarak artış göstermesine karşın *B.choerinum* oranı (sırası ile %1,9 ve %3), başlangıç noktasına kıyasla yaklaşık dörtte birine kadar düşmüştür.

S.entomophia oranları, T0 anında iki grupta da %1'in altında olmasına karşın, deney sonuna doğru özellikle kontrol grubunda önemli derecede artış göstermiştir. Kontrol grubunda, ilk iki haftanın sonuna kadar %1'in altında olan *S.entomophia*, dördüncü haftanın sonunda %5,8'e yükselmiş ve sekizinci haftanın sonunda %15,1'e çıkarak mikrobiyotadaki ikinci baskın tür haline gelmiştir. Deney sonunda %10,9'a inmesine karşın, baskın türler arasındaki sırasını korumuştur. Müdahale grubunda ise *S.entomophia* oranı, dördüncü haftanın sonuna kadar %1'in altında kalmıştır. Sekizinci haftanın sonunda hızlı bir artışla %3,1'e çıkmasına karşın *S.entomophia*, deney sonunda %1,2'ye düşerek, başlangıç seviyesinin üstüne çıkmış ancak fark edilir bir artış göstermemiştir.

B.coccoides, *P.argentinicus*, *L.johnsonii*, *L.ultinensis* ve *L.hayakitens* oranları ise hem kontrol hem de müdahale grubunda deney süresi boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir. *B.coccoides* oranları, iki grupta da deney sonunda başlangıç seviyesine kıyasla artarken

(kontrol ve müdahale grubu için sırası ile %5,8 ve %2,2); *P.argentinicus*, *L.johnsonii* ve *L.ultinensis* oranları iki grupta da düşme eğilimi göstermiştir (kontrol grubu için sırası ile %0,7, %0,4 ve <%0,1; müdahale grubu için sırası ile %2,1, %1 ve %0,1). Bununla birlikte, *L.hayakitens* oranları, başlangıç noktasına kıyasla, kontrol grubunda azalırken (%0,8) müdahale grubunda artmıştır (%8,9).

Numuneler arasındaki yapısal farklılıkları daha iyi değerlendirmek için ana türlerin göreceli oranlarına dayanarak yapılan PCoA'ya göre, müdahale grubuna ait örnekler (T0-3 – T12-3), kontrol grubuna ait örneklerle (T0-1 – T12-1) göre daha kümeli bir dağılım göstermiştir. (Şekil 3.14-C). Buna göre, tür seviyesinde, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda, müdahale grubuna kıyasla deney süreci boyunca daha radikal değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubunda, T0 ve T12 anına ait numuneler arasındaki uzaklığın, müdahale grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu farklılık, kontrol grubunun mikrobiyotasında, müdahale grubuna kıyasla, başlangıç noktasına göre deney sonunda türler arası daha belirgin bir yapısal değişikliğin söz konusu olduğuna dikkat çekmektedir.



Şekil 3.14. Dişi sıçanlarda en fazla görülen 20 tür. A) Kontrol grubundaki sıçanlarda zamana göre değişim, B) Tartrazin müdahalesi alan sıçanlarda zamana göre değişim C) Tüm dişi sıçanların Temel Koordinat Analizi (PCoA).

3.3.1. Erkek Sıçanlarda Tartrazinin Dışkı Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında, hem zamana (Bölüm 3.2.1.'de özetlenmiştir) hem de tartrazin müdahalesine bağlı birtakım değişiklikler meydana gelmiştir. Yapılan PCoA analizlerine göre, kontrol ve müdahale grubunda yer alan erkek sıçanlarda, T0 anındaki dışkı mikrobiyotasının kompozisyonu, tür, cins, familya, takım, sınıf ve filum seviyesinde birbirinden farklılık göstermektedir (sırası ile Şekil 3.8-C, Şekil 3.7-C, Şekil 3.6-C, Şekil 3.5-C, Şekil 3.4-C, Şekil 3.3-C). Başlangıç noktasındaki baskın filumların dağılımı kıyaslandığında, kontrol grubunda *Proteobacteria*, müdahale grubuna kıyasla daha yaygın iken; müdahale grubunda ise *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*, kontrol grubuna kıyasla daha yaygındır (Şekil 3.3-A/B). Bu farklılık, tartrazin müdahalesinin salt etkisini değerlendirmeyi zorlaştırırsa da, deney süresi boyunca dışkı mikrobiyotasındaki bakterilerin nispi çokluğunda meydana gelen artma-azalma eğilimleri, gruplar arasında değişim göstermiştir. Buna göre, tartrazin müdahalesiyle *Proteobacteria* filumunun nispi çokluğu artarken, *Firmicutes*'in nispi çokluğu azaltmıştır (özellikle sekizinci haftadan sonra). *Bacteroidetes* filumunda hem kontrol hem de müdahale grubunda bir düşüş meydana gelirken, tartrazin alan gruptaki mutlak değişim, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olmuştur. *Actinobacteria* filumu ise, her iki grupta da benzer bir düşüş trendi göstermiştir (Şekil 3.3-A/B). Sınıf seviyesinde bu değişimler, *Gammaproteobacteria*'da (*Proteobacteria*), *Bacilli*'de (*Firmicutes*), *Bacteroidia*'da (*Bacteroidetes*) ve *Actinobacteria*'da (*Actinobacteria*) gözlenmiştir (Şekil 3.4-A/B). Takımlar arası farklılıklar incelendiğinde ise tartrazin müdahalesi, *Enterobacteriales*'in (*Gammaproteobacteria*) üremesini teşvik etmiş, *Lactobacilliales* (*Bacilli*), *Bacteroidales* (*Bacteroidia*) ve *Bifidobacteriales*'teki (*Actinobacteria*) düşme şiddetini kontrole kıyasla arttırmıştır (Şekil 3.5-A/B). Familya seviyesinde en belirgin fark, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* ve *Bifidobacteriaceae*'dedir; buna göre tartrazin müdahalesi ile *Enterobacteriaceae*'nin nispi çokluğu (*Enterobacteriales*) artarken, *Lactobacillaceae* (*Lactobacilliales*) ve *Bifidobacteriaceae* (*Bifidobacteriales*) familyaları, kontrole kıyasla daha şiddetli bir düşme eğilimi göstermiştir (Şekil 3.6-A/B). Kontrol ve müdahale grubunun değişim trendleri arasında farklılıklar olmakla birlikte, bahsi geçen bakteri gruplarının deney sonundaki nispi çoklukları, gruplar arasında çoğunlukla benzerdir.

Cins ve tür seviyesindeki farklılıklar, üst taksonomik basamaklara göre daha minimaldir. Ancak yine de, bu seviyelerde de tartrazin müdahalesinin gözlemlenebilir etkilerinden söz etmek mümkündür. Tartrazin, kontrol grubunun aksine, *Escherichia* cinsinin (özellikle

E.albertii) üremesini arttırmıştır. Ek olarak, tartrazin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinde (özellikle *B.choerinum*) meydana gelen düşüşü, kontrole kıyasla, oransal olarak arttırmıştır (Şekil 3.7-A/B ve Şekil 3.8-A/B). Gruplarda bakteri popülasyonlarında meydana gelen değişimler Çizelge 3.1.'de özetlenmiştir.



Çizelge 3.1. Erkek sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler

	T0	Kontrol (K) (T0 → T12)	Müdahale (M) (T0 → T12)	T12
Erkek	K>M	<i>Proteobacteria</i> ↔	<i>Proteobacteria</i> ↑↑	M>K
	K>M	<i>Gammaproteobacteria</i> ↓	<i>Gammaproteobacteria</i> ↑↑	M>K
	K>M	<i>Enterobacteriales</i> ↓	<i>Enterobacteriales</i> ↑↑	K≈M
	K>M	<i>Enterobacteriaceae</i> ↓	<i>Enterobacteriaceae</i> ↑↑	K≈M
	K>M	<i>Escherichia</i> ↓	<i>Escherichia</i> ↑	K≈M
	K>M	<i>E.albertii</i> ↓	<i>E.albertii</i> ↑	K≈M
	M>K	<i>Firmicutes</i> ↑	<i>Firmicutes</i> ↓	K>M
	K≈M	<i>Clostridia</i> ↑	<i>Clostridia</i> ↔	K>M
	K≈M	<i>Clostridiales</i> ↑	<i>Clostridiales</i> ↔	K>M
	K≈M	<i>Lachnospiraceae</i> ↑	<i>Lachnospiraceae</i> ↔	K≈M
	K≈M	<i>Blautia</i> ↑	<i>Blautia</i> ↔	K≈M
	K≈M	<i>B.coccoides</i> ↑	<i>B.coccoides</i> ↔	K≈M
	K≈M	<i>Bacilli</i> ↑	<i>Bacilli</i> ↓↓	K>M
	M>K	<i>Lactobacilliales</i> ↓	<i>Lactobacilliales</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>Lactobacillaceae</i> ↓	<i>Lactobacillaceae</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>Lactobacillus</i> ↓	<i>Lactobacillus</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>L.johnsoni</i> ↓	<i>L.johnsoni</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>L.ultunensis</i> ↔	<i>L.ultunensis</i> ↓↓	K≈M
	K≈M	<i>L.hayakitensis</i> ↔	<i>L.hayakitensis</i> ↓	K≈M
	K>M	<i>Bacilliales</i> ↑↑	<i>Bacilliales</i> ↔	K>M
	M>K	<i>Bacteroidetes</i> ↓	<i>Bacteroidetes</i> ↓↓	M>K
	M>K	<i>Bacteroidia</i> ↓	<i>Bacteroidia</i> ↓↓	M>K
	M>K	<i>Bacteroidales</i> ↓	<i>Bacteroidales</i> ↓↓	M>K
	M>K	<i>Bacteroidaceae</i> ↓	<i>Bacteroidaceae</i> ↓	M>K
	M>K	<i>Bacteroides</i> ↓	<i>Bacteroides</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>B.sartorii</i> ↑	<i>B.sartorii</i> ↔	K>M
	M>K	<i>Prevotellaceae</i> ↔	<i>Prevotellaceae</i> ↓	K≈M
	M>K	<i>Prevotella</i> ↓	<i>Prevotella</i> ↓↓	M>K

Çizelge 3.1. Devam. Erkek sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler

	T0	Kontrol (K) (T0 → T12)	Müdahale (M) (T0 → T12)	T12
Erkek	K≈M	<i>Actinobacteria</i> ↓	<i>Actinobacteria</i> ↓	K≈M
	K≈M	<i>Actinobacteria</i> ↓	<i>Actinobacteria</i> ↓	K≈M
	M>K	<i>Bifidobacteriales</i> ↓	<i>Bifidobacteriales</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>Bifidobacteriaceae</i> ↓	<i>Bifidobacteriaceae</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>Bifidobacterium</i> ↓	<i>Bifidobacterium</i> ↓↓	K≈M
	M>K	<i>B.choerinum</i> ↓	<i>B.choerinum</i> ↓↓	K≈M

Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasındaki bakteri gruplarının yanı sıra, baskın filumların birbirine olan oranı da hem zamana hem de tartrazin müdahalesine bağlı olarak değişim göstermiştir. *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı, hem kontrol hem de müdahale grubunda, on iki haftalık deney periyodunun sonunda artmıştır. Kontrol grubunda, 1,79 olan oran, 7,67'ye çıkarken; müdahale grubunda 1,4 olan oran 1,72'ye çıkmıştır. Buna göre, tartrazin müdahalesi, başlangıçta benzer olan *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki zamana bağlı artışı oransal olarak düşürmüştür (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. Erkek sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarında deney başı ve sonundaki *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları

	Erkek	
	T0	T12
Kontrol	1,79	7,67
Müdahale	1,4	1,72

3.3.2. Dişi Sıçanlarda Tartrazinin Dışkı Mikrobiyotası Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında da, erkek sıçanlara benzer şekilde, hem zamana (Bölüm 3.2.2.'de özetlenmiştir) hem de tartrazin müdahalesine bağlı birtakım değişiklikler meydana gelmiştir. Yapılan PCoA analizlerine göre, kontrol ve müdahale grubunda T0 anındaki dışkı mikrobiyotasının kompozisyonu, tüm taksonomik basamaklar için benzerlik göstermektedir (Şekil 3.9-C, Şekil 3.10-C, Şekil 3.11-C, Şekil 3.12-C, Şekil 3.13-C ve Şekil 3.14-C). Deney süresi boyunca, tartrazin müdahalesinin etkisiyle, gruplardaki baskın bakteri topluluklarının göreceli dağılımı arasında birtakım ayrışmalar meydana gelmiştir. Buna göre tartrazin müdahalesi, *Proteobacteria*'daki artış eğiliminin şiddetini, kontrol grubuna kıyasla düşürürken, *Bacteroidetes* üremesini arttırmıştır. *Firmicutes* filumunun nispi çokluğu, her iki grupta da azalmış, ancak kontrol grubundaki mutlak değişim, tartrazin grubuna kıyasla daha fazla olmuştur. *Actinobacteria* filumu ise, gruplarda benzer bir düşüş trendi göstermiştir (Şekil 3.9-A/B). Sınıf seviyesinde bu etkiler, *Gammaproteobacteria*'da (*Proteobacteria*), *Bacilli*'de (*Firmicutes*), *Bacteroidia*'da (*Bacteroidetes*) ve *Actinobacteria*'da (*Actinobacteria*) gözlenmiştir (Şekil 3.10-A/B). Ek olarak *Clostridia* sınıfı (*Firmicutes*) her iki grupta da artmış, ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur. Takımlar arası farklılıklar incelendiğinde ise, tartrazin müdahalesi kontrol grubuna kıyasla, *Enterobacteriales*'teki (*Gammaproteobacteria*) artış eğiliminin şiddetini azaltmış, *Clostridiales* (*Clostridia*) ve *Bacteroidales*'i (*Bacteroidia*) arttırmış, *Lactobacilliales* (*Bacilli*) ve *Bifidobacteriales*'te

(*Actinobacteria*) meydana gelen düşüşün şiddetini azaltmıştır (Şekil 3.11-A/B). Ailesi seviyesinde en belirgin farklar, *Enterobacteriaceae* (*Enterobacteriales*), *Lactobacillaceae* (*Lactobacilliales*), *Bacteroidaceae* (*Bacteroidales*), *Bifidobacteriaceae* (*Bifidobacteriales*), *Veillonellaceae* (*Clostridiales*) ve *Ruminococcaceae* (*Clostridiales*)'dir. Buna göre tartrazin müdahalesi kontrolle kıyaslandığında, *Enterobacteriaceae*'da meydana gelen artış eğiliminin şiddetini azaltırken, *Bacteroidaceae*, *Veillonellaceae* ve *Ruminococcaceae* familyalarını kontrol grubunun aksine arttırmıştır. Ek olarak, *Lactobacillaceae* ve *Bifidobacteriaceae* familyalarında her iki grupta da zamana bağlı bir düşüş meydana gelmekle birlikte, kontrol grubundaki mutlak değişim daha fazla olmuştur (Şekil 3.12-A/B). Farklı taksonomik basamaklar için bahsi edilen bakteri gruplarının deney sonundaki nispi çoklukları, değişim trendlerine de paralel olarak gruplar arasında farklılık göstermiştir. Buna göre, *Proteobacteria* ve alt taksonomik basamaklarının deney sonundaki nispi çokluğu, kontrol grubunda müdahale grubuna kıyasla daha fazla iken; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve alt taksonomik basamaklarının deney sonundaki nispi çokluğu, müdahale grubunda kontrol grubuna kıyasla daha fazladır.

Cins ve tür seviyesindeki farklılıklar, üst taksonomik basamaklara göre daha minimaldir. Ancak yine de, bu seviyelerde de tartrazin müdahalesiyle birlikte birtakım gözlemlenebilir değişiklikler meydana gelmiştir. Tartrazin, *Escherichia* ve *Serratia*'da (özellikle *E.albertii* ve *S.entomophia*) meydana gelen artış eğiliminin şiddetini, kontrole kıyasla, azaltırken, *Bacteroides* (özellikle *B.sartorii*) ve *Veillonella*'nın (özellikle *V.criceti*) nispi çokluğunu arttırmıştır. Ek olarak, tartrazin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinde (özellikle *B.choerinum*) meydana gelen düşüşü, kontrole kıyasla, yavaşlatmıştır (Şekil 3.13-A/B ve Şekil 3.14-A/B). Gruplarda bakteri popülasyonlarında meydana gelen değişimler Çizelge 3.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.3. Dişi sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler

	T0	Kontrol (K) (T0 → T12)	Müdahale (M) (T0 → T12)	T12
Dişi	K≈M	<i>Proteobacteria</i> ↑↑	<i>Proteobacteria</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>Gammaproteobacteria</i> ↑↑	<i>Gammaproteobacteria</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>Enterobacteriales</i> ↑↑	<i>Enterobacteriales</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>Enterobacteriaceae</i> ↑↑	<i>Enterobacteriaceae</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>Escherichia</i> ↑↑	<i>Escherichia</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>E.albertii</i> ↑↑	<i>E.albertii</i> ↑	K>M
	K≈M	<i>Serratia</i> ↑	<i>Serratia</i> ↔	K>M
	K≈M	<i>S.entomophila</i> ↑↑	<i>S.entomophila</i> ↔	K>M
	M>K	<i>Firmicutes</i> ↓↓	<i>Firmicutes</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>Clostridia</i> ↑	<i>Clostridia</i> ↑↑	M>K
	K≈M	<i>Clostridiales</i> ↑	<i>Clostridiales</i> ↑↑	M>K
	K>M	<i>Lachnospiraceae</i> ↑	<i>Lachnospiraceae</i> ↑	K>M
	K>M	<i>Blautia</i> ↑↑	<i>Blautia</i> ↑	K>M
	K>M	<i>B.coccoides</i> ↑↑	<i>B.coccoides</i> ↑	K>M
	M>K	<i>Veillonellaceae</i> ↔	<i>Veillonellaceae</i> ↑↑	M>K
	M>K	<i>Veillonella</i> ↔	<i>Veillonella</i> ↑↑	M>K
	M>K	<i>V.criceti</i> ↔	<i>V.criceti</i> ↑↑	M>K
	K≈M	<i>Ruminococcaceae</i> ↔	<i>Ruminococcaceae</i> ↑	M>K
	K≈M	<i>Ruminococcus</i> ↔	<i>Ruminococcus</i> ↑	M>K
	K≈M	<i>Ruminococcus callidus</i> ↔	<i>Ruminococcus callidus</i> ↑	M>K
	M>K	<i>Bacilli</i> ↓↓	<i>Bacilli</i> ↓	M>K
	M>K	<i>Lactobacilliales</i> ↓↓	<i>Lactobacilliales</i> ↓	M>K
	M>K	<i>Lactobacillaceae</i> ↓↓	<i>Lactobacillaceae</i> ↓	M>K
	M>K	<i>Lactobacillus</i> ↓↓	<i>Lactobacillus</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>L.johnsoni</i> ↓	<i>L.johnsoni</i> ↓	K≈M
	M>K	<i>L.ultunensis</i> ↓	<i>L.ultunensis</i> ↓↓	K≈M
	K≈M	<i>L.hayakitensis</i> ↔	<i>L.hayakitensis</i> ↑	M>K
	M>K	<i>Bacilliales</i> ↓	<i>Bacilliales</i> ↓↓	K≈M

Çizelge 3.3. Devam Dişi sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarının bağırsak mikrobiyotasında deney başından sonuna (T0-T12) kadar meydana gelen değişiklikler

	T0	Kontrol (K) (T0 → T12)	Müdahale (M) (T0 → T12)	T12
Dişi	K>M	<i>Bacteroidetes</i> ↓	<i>Bacteroidetes</i> ↑	M>K
	K>M	<i>Bacteroidia</i> ↓	<i>Bacteroidia</i> ↑	M>K
	K>M	<i>Bacteroidales</i> ↓	<i>Bacteroidales</i> ↑	M>K
	K>M	<i>Bacteroidaceae</i> ↓	<i>Bacteroidaceae</i> ↑	M>K
	K>M	<i>Bacteroides</i> ↓	<i>Bacteroides</i> ↑	M>K
	K≈M	<i>B.sartorii</i> ↔	<i>B.sartorii</i> ↑	M>K
	K≈M	<i>Actinobacteria</i> ↓	<i>Actinobacteria</i> ↓	K≈M
	K≈M	<i>Actinobacteria</i> ↓↓	<i>Actinobacteria</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>Bifidobacteriales</i> ↓↓	<i>Bifidobacteriales</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>Bifidobacteriaceae</i> ↓↓	<i>Bifidobacteriaceae</i> ↓	M>K
	M>K	<i>Bifidobacterium</i> ↓↓	<i>Bifidobacterium</i> ↓	M>K
	K≈M	<i>B.choerinum</i> ↓↓	<i>B.choerinum</i> ↓	M>K

Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasındaki bakteri gruplarının yanı sıra, baskın filumların birbirine olan oranı da hem zamana hem de tartrazin müdahalesine bağlı olarak değişim göstermiştir. *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı, kontrol grubunda, on iki haftalık deney periyodunun sonunda artış gösterirken, müdahale grubunda azalmıştır. Kontrol grubunda, 2,27 olan oran, 2,98'e çıkarken; müdahale grubunda 4,11 olan oran 2,72'ye düşmüştür. Buna göre, tartrazin müdahalesi, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını, hem başlangıç seviyesine hem de kontrol grubuna kıyasla düşürmüştür (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Dişi sıçanlarda kontrol ve müdahale gruplarında deney başı ve sonundaki *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları

	Dişi		
	T0		T12
Kontrol	2,27	↑	2,98
Müdahale	4,11	↓↓	2,72

3.4. Erkek ve Dişi Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Bakteri Çeşitliliğinde Meydana Gelen Değişimin Değerlendirilmesi

Erkek ve dişi sıçanların dışkı numunelerindeki bakteri türleri temel alınarak hesaplanan Shannon Çeşitlilik İndeksi (H) değerleri Çizelge 3.5'te verilmiştir. Ekosistemdeki bakteri çeşitliliği arttıkça değeri artan Shannon indeksi, başlangıç noktasında, hem erkek hem de dişilerde, kontrol ve müdahale grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Erkek sıçanlarda, kontrol grubunda, deney başı ve sonundaki Shannon değeri benzerlik gösterirken ($p=0,965$); müdahale grubunda, deney sonunda Shannon değeri azalmıştır ($p<0,001$). Dişi sıçanlarda ise, kontrol grubunda Shannon değeri azalırken ($p<0,001$), müdahale grubunda artış göstermiştir ($p<0,001$). Deney sonunda, erkek sıçan gruplarının Shannon değerleri benzerlik gösterirken ($p=0,4$); dişi sıçanlarda, müdahale grubunun Shannon değeri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

Çizelge 3.5. Erkek ve Dişi Sıçanların Dışkı Numunelerindeki Bakteri Türleri Temel Alınarak Hesaplanan Shannon Çeşitlilik İndeksi Değerleri

	ERKEK			Dişi		
	Kontrol	Müdahale	p^*	Kontrol	Müdahale	p^*
T0	3,108	3,704	<0,001	4,022	3,78	<0,001
T1	3,205	3,664	<0,001	3,5	4,257	<0,001
T2	3,092	2,49	<0,001	3,456	3,59	<0,001
T4	3,248	3,356	0,35	3,011	4,278	<0,001
T8	3,05	3,858	<0,001	2,633	4,14	<0,001
T12	3,112	3,211	0,4	3,098	4,051	<0,001
$p^{\dagger}$	0,965	<0,001		<0,001	<0,001	

*Kontrol ve müdahale grubu arasındaki fark

[†]T0 ve T12 arasındaki fark

4. TARTIŞMA

Tartrazin, besin endüstrisinde renklendirici olarak sıklıkla tercih edilen bir gıda katkı maddesidir. Bununla birlikte, tartrazinin konak bağışıklık tepkisini modüle eden ve vücudun sağlığı ve hastalığında anahtar rol oynayan bağırsak mikroorganizmaları üzerindeki etkileri henüz net olarak bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında, ADI dozunda uzun dönem tartrazin kullanımının vücut ağırlığı ve bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

4.1. Tartrazinin Vücut Ağırlığı Üzerine Etkisi

Bu çalışmaya dahil edilen erkek ve dişi sıçan gruplarında, periadölesan dönemdeki büyüme faktörünün de etkisiyle, hem kontrol hem müdahale gruplarında vücut ağırlığı artışı gözlemlenmiştir. Ancak, tartrazin müdahalesi alan erkek sıçanlarda, vücut ağırlığı artış oranı (%) kontrol grubundaki erkek sıçanların altında kalmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 3.1). Literatürde sunulan öncül çalışmaların sonuçları, bu tez çalışmasından elde edilen bulgularla paralellik arz etmektedir. Albino fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, yalnızca erkek farelerde, 13 hafta boyunca %0,45 ve %1 oranında tartrazin içeren içme suyunun tüketimi, vücut ağırlığı artış oranını katkısız su tüketimine kıyasla anlamlı şekilde düşürmüştür (Guendouz vd., 2013). Yirmi beş gün boyunca 200 mg/kg/vücut ağırlığı veya 400 mg/kg/vücut ağırlığı tartrazin tüketen albino farelerde ise vücut ağırlığı artış oranı, yalnızca 400 mg/kg/vücut ağırlığı tartrazin alan farelerde anlamlı şekilde düşmüştür (Arefin vd., 2017). Tartrazinin sindirim enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisinin değerlendirildiği bir diğer fare çalışmasında, 13 hafta boyunca yüksek doz (%0,05) ve düşük doz (%0,005) tartrazin içeren içme suyu tüketimiyle, erkek ve dişi sıçan gruplarında, her iki dozda da vücut ağırlığı artışının azaldığı, ancak kontrol ve müdahale grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Ameur vd., 2020). Yalnızca erkek sıçanların değerlendirildiği benzer dizayna sahip bir başka çalışmada ise, 30 gün boyunca düşük doz (15 mg/kg/vücut ağırlığı) veya yüksek doz (500 mg/kg/vücut ağırlığı) tartrazin alımının, vücut ağırlığı artışını kontrol grubuna kıyasla önemli derecede düşürdüğü rapor edilmiştir (Amin vd., 2010). Bu çalışmanın verileri, ADI seviyesinde dahi tartrazin alımının, yalnızca erkek sıçanlarda vücut ağırlığı artışını yavaşlatabileceğine işaret etmektedir. Dişilerde ise tartrazin alımı, vücut ağırlığı parametreleri üzerinde gözlemlenebilir bir fark yaratmamıştır (Şekil 3.1). Bu durum, dişi ve erkek sıçanlar arasındaki fizyolojik farklılıklara atfedilebilir. Vücut ağırlığı kaybı, güvenilir ve hassas bir toksisite göstergesi olarak kabul edilmekle birlikte (Ezeuko vd., 2007), bu çalışmanın kapsamı, tartrazinin toksisitesine yönelik güçlü kanıtlar sunabilecek herhangi bir biyobelirtecine

incelenmesini içermemektedir. Tartrazinin güvenilirliğine ilişkin çalışmaların değerlendirildiği güncel EFSA raporu, 7,5mg/kg/vücut ağırlığı/gün tartrazin tüketiminin güvenilir olduğunu önermektedir (EFSA, 2009). Literatürde bu dozda revizyon önerebilmek için yeterli miktarda kanıt yer almamaktadır.

4.2. Tartrazinin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkisi

Bu çalışmanın sonuçları, tartrazin müdahalesinin, bağırsak mikrobiyotasında yer alan bakterilerin göreceli oranları üzerinde cinsiyet bağımlı bir etkisi olduğuna yönelik kanıt sunmaktadır (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.3). Literatürde, diyet kompozisyonu ve diyetteki yağ türünün bağırsak mikrobiyotasını erkek ve kadın bireylerde farklı yönde etkileyebileceğine yönelik öncül çalışmalar mevcuttur (Valeri ve Endres, 2021). Bununla birlikte, gıda katkı maddeleri ve bağırsak mikrobiyotası ilişkisinde cinsiyetin etkisini değerlendiren çalışma sayısı kısıtlıdır. Yapılan bir çalışmada, besinlerde emülsifiyer olarak kullanılan karboksimetilsellüloz ve Polisorbat 80'in farelerde bağırsak mikrobiyotasını cinsiyete bağlı değiştirdiği gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, karboksimetilsellüloz, erkek farelerde *Staphylococcus* ve *Ruminococcus* cinslerini arttırırken, dişilerde *Deferribacteres* üremesini desteklemiştir. Polisorbat 80 ise, sadece erkek farelerde *Pseudomonas* oranını arttırmıştır (Holder vd., 2019). Asesülfam-K ile yapılan başka bir çalışmada ise, tatlandırıcı alan erkek farelerde, tatlandırıcı alan dişi farelere göre, *Bacteroides* oranındaki artışın daha fazla olduğu; dişi farelerde ilaveten, erkek farelerden farklı olarak, *Lactobacillus*, *Clostridium*, sınıflandırılmamış bir *Ruminococcacea* cinsi ve sınıflandırılmamış bir *Oxalobacteraceae* cinsinde artış meydana gelirken; *Mucispirillum* cinsinin düştüğü gösterilmiştir (Bian vd., 2017). Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre ise tartrazin müdahalesi, erkek sıçanlarda *Proteobacteria*'yı arttırırken, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*'i düşürmekte; dişi sıçanlarda ise *Proteobacteria*'nin nispi çokluğunu kontrol grubuna göre düşürürken, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranlarını kontrollere kıyasla arttırmaktadır (Şekil 3.3, Şekil 3.9, Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.3). Aynı diyet müdahalesinin bağırsak mikrobiyotasını cinsiyete bağlı olarak nasıl farklı yönlerde şekillendirebileceği sorusu, güncel literatürde henüz yanıt bulamamıştır. Bununla birlikte, erkek ve dişi cinsiyet hormonlarının bağırsaktaki bakteri kompozisyonu üzerine olası etkileri, bu soruya ilişkin sunulan en yaygın açıklamalardan bir tanesidir. Yapılan bir hayvan çalışmasında, kastrasyon işlemi sonrası erkek farelerdeki bağırsak mikrobiyotasının dişi farelerle benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir (Org vd., 2016). Bu sonuç, cinsiyet hormonlarının bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesi üzerindeki etkisine yönelik güçlü bir kanıt sunmasına karşın, erkek ve dişilerin bağırsak mikrobiyotasındaki farklılıklara

ilişkin fizyolojik mekanizmaları aydınlatmada yetersiz kalmaktadır.

Literatürde, tartrazinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri, yalnızca Wu ve arkadaşlarının (2021) sazan balıkları üzerinde yaptığı çalışmada değerlendirilmiştir. Wu ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlar, tartrazin tüketiminin, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* filumlarında anlamlı bir artışla ilişkili olabileceğine işaret etmektedir (Wu vd., 2021). Bu tez çalışmasında ise, yalnızca erkek sıçanlarda, tartrazin tüketimiyle *Proteobacteria* filumunda klinik açıdan önemli bir artış meydana gelirken; dişi sıçanlarda tartrazin tüketimi *Proteobacteria*'daki artışı göreceli olarak düşürmüştür. Erkek sıçanlarda, *Proteobacteria*'daki artışa ilave olarak tartrazin müdahalesiyle *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumlarında düşüş görülürken; dişi sıçanlarda *Bacteroidetes* artmış, *Firmicutes* ise, kontrol ve müdahale gruplarının ikisinde de azalmış olmasına karşın, kontrol grubunun deney sonu oranı, müdahale grubunun altında kalmıştır. Bununla birlikte, *Actinobacteria* filumu, her iki cinsiyette de tüm gruplarda azalmıştır (Şekil 3.3, Şekil 3.9, Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.3). Bu veriler, ADI dozunda dahi tartrazin tüketiminin, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu üzerinde etkili olabileceğine dikkat çekmektedir. Yapılan PCoA analizleri de, hem dişi hem erkek sıçanlarda tartrazin müdahalesiyle bağırsak mikrobiyal kompozisyonunun değişim gösterdiğini doğrulamaktadır. Gıda katkı maddelerinin toksisitesi ve sağlık üzerine etkilerine yönelik çok sayıda rapor olmasına karşın, katkı maddeleri ve intestinal mikrobiyota ilişkisini değerlendiren çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Bu alanda yapılacak ileri çalışmaların literatüre kazandırılmasının, gıda katkı maddeleri ile sağlık arasındaki ilişkide mikrobiyotanın mediyatör rolü üzerine bilgimizi arttıracacağı düşünülmektedir.

Bağırsak mikrobiyotası üzerinde yapılan pek çok çalışma, mikrobiyotanın, konakçının sağlığı ve hastalıkları üzerine önemli etkileri olabileceğine vurgu yapmaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, immün sistem ve metabolik yolların gelişimi ve olgunlaşmasındaki kritik rolü sebebiyle, inflamatuvar ve metabolik kökenli pek çok hastalığın oluşumuna ve ilerlemesine katkı verebilmektedir (Bibbò vd., 2016). Bu sebeple, mikrobiyotadaki baskın filumların göreceli konsantrasyonunda meydana gelen değişikliklerin, konakçı sağlığına uzun ve/veya kısa dönemde yansımaları olması muhtemeldir.

Tartrazin müdahalesiyle erkek sıçanlarda artan, dişi sıçanlarda ise azalan *Proteobacteria* filumu, bağırsak mikrobiyotasındaki en yaygın filumlardan bir tanesidir ve patojen olarak tanınan pek çok gram negatif bakteri (örn. *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, vb.), yaygın olarak bu filum altında sınıflanmaktadır. *Proteobacteria* filumu altında sınıflan

bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkaritler, vücutta düşük doz infalamasyona sebebiyet vererek “endotoksemi” olarak tanımlanan klinik tablonun oluşumunda ve bunun bir sonucu olarak da inflamatuvar kökenli hastalıkların indüklenmesinde etken rol oynayabilmektedir (Rizzatti vd., 2017). İnflamatuvar hastalıkların başında gelen obezite ile mikrobiyota ilişkisine yönelik bir hayvan çalışmasında, izole *Enterobacter* popülasyonunun steril farelere transplantasyonu, yüksek yağlı diyet tüketimi halinde vücut ağırlığı artışıyla sonuçlanmıştır (Fei ve Zhao, 2013). Ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, yüksek yağlı diyet tüketiminin yalnızca obeziteye yatkın fenotipte, ileal inflamasyonla ilişkili toll benzeri reseptör (TLR4) artışıyla ilişkili olduğu; bu rat grubunda, intestinal geçirgenlik ve plazma LPS konsantrasyonunun yanı sıra, fekal *Enterobacteriales*’in nispi çokluğunda da artış meydana geldiği bildirilmiştir (De La Serre vd., 2010). İnsanlar üzerinde yapılan mikrobiyota çalışmalarının değerlendirildiği bir sistematik derlemenin verileri de *Proteobacteria*’nın obeziteyle sıklıkla ilişkilendirilen filumlar arasında olduğuna yönelik kanıtlar sunmaktadır. Verilere göre, değerlendirmeye dahil edilen 60 çalışmanın 15’i, *Proteobacteria* filumu ile vücut ağırlığı arasında bir ilişki rapor etmiş ve bu çalışmalardan 13’ü, *Proteobacteria*’nın obeziteyle pozitif ilişki gösterdiği sonucuna ulaşmıştır (Xu vd., 2022). Literatürde, *Proteobacteria* ve obezite ilişkisini doğrulayan veriler olmasına karşın, zıt yönde sonuç elde eden çalışmalar da mevcuttur. Obezitesi olan ve sağlıklı vücut ağırlığına sahip bireylerin bağırsak mikrobiyotalarının karşılaştırıldığı bir sistematik derleme çalışması, değerlendirilen 12 çalışmanın sekizinde gruplardaki *Proteobacteria* oranları arasında anlamlı bir fark bulunmadığını rapor etmiştir (Pinart vd., 2022). Değerlendirmeye dahil edilen çalışmalardan birinde ise, *Proteobacteria*’nın nispi çokluğu, obeziteye sahip bireylere kıyasla, sağlıklı vücut ağırlığına sahip bireylerde daha yüksek bulunmuştur (Salah vd., 2019). Bu tez çalışmasının verileri, *Proteobacteria* ve vücut ağırlığı arasında, cinsiyete bağımlı bir ilişkinin olabileceğine yönelik kanıt sunmaktadır. Dişi sıçanlarda tartrazin müdahalesi, *Proteobacteria* üremesini kontrol grubuna kıyasla yavaşlatmış olmasına karşın (Şekil 3.9), iki grubun vücut ağırlığı artış miktarları (kg) ve/veya artış oranları (%) arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir (Şekil 3.1) (sırası ile $p=0,328$ ve $p=0,645$). Erkek sıçanlarda ise tartrazin müdahalesi, *Proteobacteria* üremesini desteklemekle birlikte (Şekil 3.3), vücut ağırlığı artış miktarlarında (kg) gruplar arasında anlamlı bir fark yaratmamıştır ($p=0,463$) (Şekil 3.1). Bununla birlikte, kontrol grubundaki ağırlık artış oranı (%) müdahale grubuna kıyasla daha yüksektir ($p<0,001$). Müdahale grubunda vücut ağırlığı, başlangıç noktasına kıyasla üç katına çıkarken, kontrol grubunda yaklaşık beş katına ulaşmıştır (Şekil 3.1). Bu veriler ışığında, erkek sıçanlarda, tartrazin müdahalesi ile mikrobiyotada artan *Proteobacteria* filumunun, vücut ağırlığı artışı üzerine negatif etki gösterebileceği hipotez edilebilir. Ancak bu hipotezin doğrulanabilmesi

için *Proteobacteria* dominansı ile vücut ağırlığı arasındaki ilişkide etkisi olabilecek fizyolojik yolların tanımlanabilmesine ve tartrazin ve/veya metabolitlerinin, bu yollar üzerinde etkisinin net olarak açıklanabilmesine olanak tanıyan ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Güncel literatür, tartrazin müdahalesiyle vücut ağırlığı artış hızında meydana gelen düşüşü bağırsak mikrobiyotası üzerinden açıklayabilmek için yetersizdir.

Bağırsak mikrobiyotasında *Proteobacteria* filumunun artışıyla sıklıkla ilişkilendiren sağlık problemlerinden bir diğeri de inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Fareler üzerinde yapılan araştırmalar, yenidoğan mikrobiyotasındaki *Proteobacteria* baskınlığının yaşla birlikte büyük ölçüde azaldığına ve bu değişimde, dendritik hücrelerin aracılık ettiği *Proteobacteria*'yı hedef alan spesifik IgA üretiminin etkili olduğuna yönelik kanıt sunmaktadır (Mirpuri vd., 2014). Öte yandan, bağırsak mikrobiyotasında erişkin çağda da devam eden *Proteobacteria* dominansı, sürekli bir intestinal inflamasyona sebep olarak genetik olarak yatkın konakçılarda Crohn's ve ülseratif kolit gibi hastalıkların ortaya çıkmasında etken rol oynayabilmektedir (Khor vd., 2011). İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ile dışkı mikrobiyotasındaki bakteri dominansı arasındaki ilişkiyi inceleyen bir meta analizde, hem Crohn's hem de ülseratif kolit hastalarında, *Proteobacteria* filumuna mensup bakterilerin artış eğilimi gösterdiği rapor edilmiştir. Meta analize dahil edilen çalışmaların sonuçlarına göre, dışkı mikrobiyotasında *Aggregatibacter* ve *Klebsiella* cinsi bakterilerin nispi çokluğu, her iki hastalıkla da pozitif ilişkili iken; Crohn's hastalığında ek olarak *Salmonella*, *Proteus*, *Parasturella*, *Morganella*, *Escherichia*, *Cronobacter* ve *Bilophila* cinsi bakterilerin nispi çokluğu da istatistiksel olarak sağlıklı kontrollerden fazladır (Abdel-Rahman ve Morgan, 2023). Bu çalışmanın sonuçları ise, tartrazin müdahalesinin özellikle erkek sıçanlarda genel olarak *Proteobacteria* filumunun ve özel olarak *Escherichia* cinsinin üreme hızını artırabileceğine yönelik kanıt sunmaktadır (Şekil 3.3 ve Şekil 3.7). Ancak bu değişimin sıçanlarda inflamatuvar bağırsak hastalıklarına yönelik bir etkisi olup olmadığının değerlendirilmesi, bu çalışmanın kapsamı dahilinde yer almamaktadır. Yapılan genom araştırmaları, intestinal floranın farklı bağırsak hastalıklarının tanımlanmasında invaziv olmayan bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğine yönelik birtakım bilimsel veriler ortaya koymuştur (Gevers vd., 2014; Zhou vd., 2018). Yapılan bir çalışmada, bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı kontrolleri Crohn's ve ülseratif kolitli hastalardan ayırt etmede sırası ile %89,5 ve %93,2 oranında doğru bilgi verebildiği rapor edilmiştir. Ancak sağlıklı ve hasta bireylerden elde edilen mikrobiyota örnekleri temel alınarak oluşturulan bu modellerin, farklı etnisite ve cinsiyet grupları için hassasiyet oranları düşebilmektedir (Zhou vd., 2018). Bu sebeple, dışkı mikrobiyotası, serum C-reaktif protein (CRP), Fekal kalprotektin, Kalgranülün

C, dışkı laktoferrini ve nötrofil-lenfosit oranı gibi geleneksel inflamasyon biyobelirteçleri (Guo vd., 2022) ve endoskopi uygulamalarının birlikte değerlendirildiği ileri çalışmaların, tartrazinin inflamatuvar bağırsak hastalıklarındaki potansiyel etkisinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabileceği önerilmektedir.

Literatürde *Proteobacteria* dominansı ile ilişkilendirilen diğer inflamatuvar hastalıklar arasında non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve non-alkolik steatohepatit de yer almaktadır (Michail vd., 2015; Zhu vd., 2013). Özellikle non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında, endojen alkol üretimine de katkısı olduğu bilinen *Gammaproteobacteria* sınıfının (Ren vd., 2007), hastalığı taşıyan bireylerde sağlıklı kontrollere göre daha yaygın olduğu rapor edilmiştir (Michail vd., 2015). Benzer şekilde, *Enterobacteriaceae* familyası ve özel olarak *Escherichia*, non-alkolik steatohepatit tespit edilen çocuklarda daha yaygın bulunmuştur (Zhu vd., 2013). Bu tez çalışmasının sonuçları, tartrazin müdahalesiyle erkek sıçanlarda, *Gammaproteobacteria* sınıfı ve özel olarak *Enterobacteriaceae* familyasının üreme ortamı bulduğuna yönelik kanıt sunmakla birlikte (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5), karaciğer dokularındaki inflamasyonun tespitine yönelik herhangi bir veri içermemektedir. Literatürde, bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisinden bağımsız olarak, sistemik tartrazin uygulamasının, fare modellerinde periportal inflamatuvar hücre yanıtı ve serum alkalın fosfataz aktivitesinde artışın yanı sıra, orta derece periportal fibrozisle ilişkilendirilebileceğine yönelik veriler mevcuttur (Meyer vd., 2017). Ancak tartrazinin karaciğer dokusu üzerindeki potansiyel etkisinde, bağırsak mikrobiyotasında yer alan bakteri kompozisyonunun rolünün olup olmadığını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Proteobacteria'dan sonra sıçan mikrobiyotasında en yaygın bulunan filumlardan *Firmicutes*, çoğunlukla gram pozitif hücre duvarı yapısına sahip endospor üreten bakterilerden oluşurken (Biology LibreTexts, 2023), *Bacteroidetes*, çoğunlukla gram negatif hücre duvarı yapısına sahip, spor üretmeyen, anaerob bakterilerden oluşmaktadır (Wexler, 2007). Literatürdeki çalışmalar, bu iki baskın filumun birbirine olan oranında (*Firmicutes/Bacteroidetes*) meydana gelen artışın, vücut kompozisyonu üzerinde etkili olabileceğine yönelik kanıtlar sunmaktadır (Koliada vd., 2017; Rahat-Rozenbloom vd., 2014). Ukraynalı yetişkin popülasyon üzerinde yapılan bir araştırmada, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının, yaş, cinsiyet, sigara tüketimi ve fiziksel aktivite gibi karıştırıcı faktörlerin etkisi dışlandığında, obeziteyi %33 oranında arttırabileceği rapor edilmiştir (Koliada vd., 2017). Kanadalı yetişkinler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, Ukrayna kohortuna benzer şekilde, fazla kilolu ve obez bireylerde, zayıf bireylere kıyasla *Firmicutes*'in nispi çokluğunun ve

Firmicutes/Bacteroidetes oranının daha yüksek olduğu, ek olarak fazla kilolu ve obez bireylerin fekal numunelerinde SCFA konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir (Rahat-Rozenbloom vd., 2014). Danimarkalı yenidoğan kohortunda ise, özellikle dokuzuncu aydan 18. aya geçişte, BKİ'nin ve SCFA üreten *Clostridium* türünün artışı arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (Bergström vd., 2014). Literatürdeki gözlemlere yönelik sunulan hipotetik biyolojik mekanizma, SCFA – özellikle bütirat – üreten bakterilerin çoğunlukla *Firmicutes* filumuna mensup olmasına dayandırılmaktadır. *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının artmasıyla birlikte bağırsak enzimlerince sindirilemeyen diyet polisakkaritlerinin SCFA'ya fermentasyonu da artmaktadır. Bu durum, konakçının diyetten enerji elde etme kapasitesini artırarak vücut ağırlığı artışı ile sonuçlanabilmektedir (Houtman vd., 2022). Bu çalışmanın verileri, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ve vücut ağırlığı arasında cinsiyete bağımlı bir ilişkinin olabileceğine yönelik kanıt sunmaktadır (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.4). Dişi sıçanlarda tartrazin müdahalesi, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını düşürmüş olmasına karşın (Çizelge 3.4), iki grubun vücut ağırlığı artış miktarları (kg) ve/veya artış oranları (%) arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir (sırası ile $p=0,328$ ve $p=0,645$) (Çizelge 3.1). Erkek sıçanlarda ise tartrazin müdahalesi, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında zamana bağlı meydana gelen ivmelenmeyi yavaşlatmakla birlikte (Çizelge 3.2), vücut ağırlığı artış miktarlarında (kg) gruplar arasında anlamlı bir fark yaratmamıştır ($p=0,463$). Bununla birlikte, kontrol grubundaki ağırlık artış oranı (%) müdahale grubuna kıyasla daha yüksektir ($p<0,001$). Müdahale grubunda vücut ağırlığı, başlangıç noktasına kıyasla üç katına çıkarken, kontrol grubunda yaklaşık beş katına ulaşmıştır (Çizelge 3.1). Bu veriler ışığında, erkek sıçanlarda, tartrazin müdahalesiyle azalan *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının, vücut ağırlığı artışı üzerine negatif etki gösterebileceği hipotez edilebilir. Bu hipotez, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ve vücut ağırlığı arasında pozitif ilişki rapor eden çalışma sonuçlarıyla da tutarlılık göstermesine karşın, tartrazin müdahalesiyle vücut ağırlığı artış hızında meydana gelen düşüşü bağırsak mikrobiyotası üzerinden açıklayabilmek için yeterli kanıt mevcut değildir. Literatürde *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ile vücut ağırlığı arasındaki pozitif ilişkiye yönelik kanıt sunan bulguların yanı sıra, SCFA konsantrasyonunda meydana gelen artışın obezite karşıtı etkilerine odaklanan zıt sonuçlar da rapor edilmiştir. Farelerde yapılan çalışmalarda asetatin, iştah azalması, yağ dokusu kaybı ve glukoz toleransında iyileşme üzerine pozitif etki gösterdiği bildirilmiştir (Yamashita vd., 2009; Zaibi vd., 2010). İnsanlarda ise, obez bireylere verilen propiyonat, iştahta, vücut ağırlığında ve yağlanmada önemli bir azalmanın yanı sıra insülin duyarlılığında iyileşme ile sonuçlanmıştır (Chambers vd., 2015, Chambers vd., 2019). Tüm bu bulgular, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ile obezite arasındaki ilişkide, SCFA'nın enerji eldesindeki rolünden daha karmaşık bir ilişkinin var olabileceğine işaret etmektedir. Bu

sebeple, öncelikle *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ve vücut ağırlığı arasındaki ilişkide olası fizyolojik mekanizmaları güçlü kanıtlarla tanımlayan, sonrasında ise, tartrazin ve/veya metabolitlerinin bu mekanizmalar üzerine etkisinin net olarak açıklanabilmesine olanak tanıyan ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Literatürde, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki değişimle ilişkilendirilen bir diğer sağlık problemi inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Obezitenin aksine, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı, sağlıklı bireylere kıyasla düşüş gösterebilmektedir (Stojanov vd., 2020). Biyopsi örnekleri değerlendirilerek yapılan bir çalışmada, *Firmicutes*'in – özellikle *Clostridia*'nın – Crohn's hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla oransal olarak daha seyrek iken, *Bacteroidetes*'in bu hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla daha yaygın olduğu gösterilmiştir (Gophna vd., 2006). Başka bir biyopsi çalışmasında, Crohn's hastalığının yanı sıra ülseratif kolitte de bağırsak mikrobiyotasının benzer şekilde değiştiği rapor edilmiştir (Walker, Sanderson, vd., 2011). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla *Firmicutes* filumunda meydana gelen düşüş, çalışmalarda en sık *F.prausnitzii*, *Clostridium leptum* ve *Clostridium coccoides* türleri ile ilişkilendirilken (Kabeerdoss vd., 2015; Tong vd., 2013; Wang vd., 2014), *Bacteroidetes* filumundaki artışın en sık *Bacteroides* cinsi ile korele olduğu bildirilmiştir (Andoh vd., 2007, Andoh vd., 2012). *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumları ile inflamatuvar bağırsak hastalıkları arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik sunulan biyolojik mekanizma, *Firmicutes* filumuna mensup bakteri popülasyonunda meydana gelen düşüşün, bağırsak ekosisteminde SCFA üretimini azaltarak, intestinal bariyer bütünlüğü ve inflamatuvar yanıtı negatif yönde etkilemesine dayandırılmaktadır (Fusco vd., 2023). Ek olarak, *Bacteroidetes* filumunda meydana gelen artış, enterotoksin özellik gösteren bazı türlerin artışıyla birlikte epitel hücre iskeleti ve hücreler arası sıkı bağlantı noktalarının regülasyonunu bozabilmektedir (Wexler, 2007). Bu çalışmanın verileri, tartrazin müdahalesinin dişi ve erkek sıçanlarda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını düşürebileceğine yönelik kanıt sunmaktadır (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.4). Özellikle erkek sıçanlarda, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki düşüş ve *Proteobacteria* filumundaki artışla birlikte değerlendirildiğinde, tartrazinin inflamatuvar bağırsak hastalıklarının gelişimi üzerinde etkisinin olabileceği hipotez edilebilir. Ancak bu hipotezin doğrulanabilmesi için, mikrobiyota analizinin yanı sıra biyopsi ve diğer inflamatuvar biyobelirtelerin birlikte değerlendirileceği ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Proteobacteria, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*'ten sonra sıçan dışkı mikrobiyotasındaki en yaygın dördüncü filum olan *Actinobacteria*, gram pozitif bakterilerden oluşur ve probiyotik

etki gösterdiği bilinen *Bifidobacterium* türlerini bünyesinde barındırır (Ranjani Anandan, 2016). Yapılan çalışmalar, yaşla birlikte mikrobiyotada baskınlığı azalan *Bifidobacterium* türlerinin, diyare, karaciğer hastalıkları, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, egzama ve kanserden korunmada pozitif etki gösterebileceğine yönelik kanıt sunmaktadır (Hidalgo-Cantabrana vd., 2017). Dokuz çalışmanın değerlendirildiği bir meta analizde, *Bifidobacterium* içeren probiyotik kombinasyonlarının, diyare hastalarında dışkı sıklığını azaltarak iyileşmeyi hızlandırdığı rapor edilmiştir (Wang vd., 2022). On dokuz çalışmanın değerlendirildiği başka bir meta analizde ise, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* kombinasyonlarını içeren probiyotik uygulamalarının, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde pozitif etki gösterdiği bildirilmiştir (Ford vd., 2018). *Bifidobacterium* türlerinin sağlık üzerine olumlu etkileri, genellikle sindirilemeyen karbonhidratları ve anne sütü oligosakkaritlerini SCFA'ya dönüştürme kapasiteleri (Tsuji vd., 2023), patojen bakterilerle rekabete girerek büyümelerine engel olma yetileri (Hidalgo-Cantabrana vd., 2017) ve konak immün sistemi üzerindeki regülatör etkilerine (Ruiz vd., 2017) atfedilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, yalnızca dişi sıçanlarda, 12 haftalık tartrazin müdahalesi alan grupta, *Bifidobacterium* ve üst taksonomik basamaklarının nispi oranlarının, kontrol grubuna kıyasla, klinik olarak daha yüksek olduğuna yönelik kanıt sunmaktadır (Şekil 3.10, Şekil 3.11, Şekil 3.12, Şekil 3.13 ve Çizelge 3.3). Tartrazinin, oral alım sonrası bağırsak mikrobiyotasında yer alan bakterilerin faaliyetiyle aminopirazolon ve daha sonra sülfanilik asit ve α -amino- β -ketobütirik asite kadar parçalanabildiği bilinmektedir (EFSA, 2009). Güncel literatür, tartrazin metabolitlerinin, mikrobiyotadaki hangi bakteri grubu tarafından fermente edildiğine yönelik veri sunmamasına karşın, α -amino- β -ketobütirik asitle benzer kimyasal yapıya sahip γ -amino-bütirik asit, yaygın olarak *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Eubacterium* ve *Bifidobacterium* cinsleri tarafından üretilmektedir (Strandwitz vd., 2019). Tartrazin müdahalesiyle dişi sıçanlarda *Bifidobacterium* cinsinin artması, tartrazinin selektif olarak bu bakteri grubunun üremesini desteklemesine atfedilebilir. Ancak bu hipotezin doğrulanabilmesi için tartrazin metabolitlerinin hangi bakteri grupları tarafından üretildiğini inceleyen çalışmaların yapılması önerilmektedir. Bununla birlikte, tartrazin etkisi ile mikrobiyotadaki konsantrasyonu değişen *Bifidobacterium* cinsinin sağlık üzerine olası etkilerinin değerlendirilmesi bu çalışmanın kapsamı dışında kalmaktadır. Tartrazin müdahalesi ve sağlık etkileri arasındaki ilişkide, *Bifidobacterium* türlerinin mediyatör etkisinin olup olmadığının anlaşılabilmesi adına bu alanda yapılacak daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bağırsak mikrobiyotasındaki baskın filumların dağılımı kadar, bakteri çeşitliliği de intestinal disbiyozisin tanımlanmasında önemli belirteçlerden biri olarak kabul edilmektedir.

Mikrobiyal çeşitliliğin azalması, literatürde tanımlanan hastalık-ilişkili-mikrobiyota tasvirlerinin en yaygın ortak özelliklerindendir. Yapılan çalışmalar, Crohn's hastalığı, irritable kolon sendromu, kolorektal kanser ve çölyak gibi sindirim sistemiyle ilişkili hastalıkların yanı sıra obezite, diyabet ve otizm gibi farklı sistemlerin tutulumunu içeren rahatsızlıklarda da bağırsak mikrobiyal çeşitliliğinin azaldığına yönelik kanıt sunmaktadır (Mosca vd., 2016). Bu çalışmada, tartrazin müdahalesi alan dişi sıçanlarda Shannon çeşitlilik indeksinin kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu ($p<0,001$); erkek sıçanlarda ise deney sonunda Shannon değerleri arasında anlamlı bir fark meydana gelmediği gösterilmiştir ($p=0,4$) (Çizelge 3.5). Bununla birlikte, tartrazin müdahalesi alan erkek sıçanlarda, başlangıç noktasına göre Shannon değerinde bir düşüş meydana gelmiştir ($p<0,001$). Eldeki verilere göre, tartrazin, cinsiyete bağımlı olarak bağırsak mikrobiyal kompozisyonunu ve çeşitliliğini değiştirebilmektedir. Bu değişimin sağlık üzerine olası etkilerinin, ileri araştırmalarda irdelenmesi önerilmektedir.

Tartrazin müdahalesiyle birlikte, bağırsak mikrobiyotasının ana filumlarında ve çeşitliliğinde meydana gelen değişiklikler ve olası sağlık etkileri yukarıda tartışılmıştır. Literatürde, tartrazin kullanımına atfedilen sağlık etkilerinde mikrobiyotanın rolüne yönelik herhangi bir veri bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmanın verileri, mikrobiyotadaki değişim ile bazı hastalıklar arasındaki olası ilişkiye yönelik hipotezde bulunmaya olanak tanımaktadır. Tartrazinin bazı ülkelerde çocuklarda DEHB ve astım/alerji oluşturma riski gerekçesiyle gıda katkı maddesi olarak kullanımının yasaklandığı bilinmektedir (Ramesh ve Muthuraman, 2018). Yapılan bir derleme çalışmasında, DEHB ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkide en sık *Bifidobacterium*, *Bacteroidaceae* ve *Clostridiales*'in nispi çokluğunda meydana gelen artışın hastalık semptomları üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Checa-Ros vd., 2021). Bu tez çalışmasında, yalnızca dişi sıçanlarda tartrazin müdahalesi alan grupta bu üç bakteri grubunun kontrol grubuna kıyasla klinik olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir (Şekil 3.13, Şekil 3.12, Şekil 3.13 ve Çizelge 3.3). Bu veriler ışığında, tartrazin kullanımının bağırsak mikrobiyotasını cinsiyete bağlı olarak değiştirerek DEHB oluşumuna katkıda bulunabileceğine yönelik bir çıkarımda bulunulabilir. Ancak bu hipotezin doğrulanabilmesi için, bağırsak mikrobiyotası ile DEHB semptomlarının bir arada değerlendirildiği daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gereklidir.

Astım ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiye yönelik yapılan çalışmalar, mikrobiyotada *Streptococcus* ve *Bacteroides* popülasyonlarında meydana gelen artış ile *Bifidobacterium*, *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Veillonella*, *Rothia* ve *Ruminococcus gnavus* popülasyonlarında meydana gelen düşüşün, ileriki yaşlarda hastalık

oluşturma riski üzerine etkili olabileceğine işaret etmektedir (Barcik vd., 2020). Atopik dermatin ise, genellikle *Clostridia* – özellikle *C.difficile* –, *E.coli* ve *Staphylococcus aerus*’taki artış ile *Bifidobacteria* ve *Bacteroidetes*’teki – özellikle *Bacteroides* – düşüşle korele olabileceği bildirilmiştir (Lee vd., 2018). Bu tez çalışmasının verilerine göre, ilgili bakteri grupları arasından yalnızca *Bacteroides* ve *Clostridia*’da müdahale ve kontrol grupları arasında cinsiyete bağımlı farklılıklar mevcuttur (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.5). Eldeki bulgular, tartrazin etkisiyle bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişim ile astım/atopi arasındaki olası ilişkiye yönelik güçlü bir kanıt sunmamaktadır. Astım/atopi patogenezi ve tartrazin kullanımı arasındaki ilişkide bağırsak mikrobiyotasının olası etkisinin tanımlanabilmesi adına, fizyolojik mekanizmaların da irdelendiği ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Bu çalışma, fizyolojik olarak insana en yakın modellerden biri kabul edilen sıçanlarda, ADI düzeyinde tartrazin kullanımıyla bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişimleri irdeleyen ilk çalışmadır. Müdahale süresinin uzun tutulması ve peripubertal dönemden yetişkinlik dönemine kadar geniş bir yaşam aralığının incelenmesi çalışmanın güçlü yanları arasındadır. Ek olarak, tartrazin içeren paketli besinlerin diyetle artış gösterdiği adolesan döneminin başlangıç noktası olarak kabul edilmesi, insanın yaşam döngüsüne eş bir değerlendirme yapabilmeye olanak tanımıştır. Öte yandan, çalışmanın birtakım sınırlılıkları da mevcuttur. İlk olarak, tartrazinin içme suyuna katılarak verilmesi, hayvanların net tartrazin alımını hesap etmeyi güçleştirmiştir. Her ne kadar haftalık su tüketim miktarı ölçümleri yapılarak, vücut ağırlığı değişimlerine göre doz revizyonları yapılmış olsa da, bu yöntem, öngörülemeyen birtakım kayıpların (örneğin suluklardan kafese damlayan suyla oluşan kayıp) ortaya çıkmasına sebep olmuştur. İkincil olarak, tartrazin müdahalesinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisi, her grubu temsilen bir hayvanın numune örnekleri üzerinden değerlendirilmiştir. Bu durum, yalnızca klinik anlamlılık üzerine yorum yapabilmeye olanak tanımıştır. Son olarak çalışma kapsamında, genel sağlık durumunu yansıtabilecek tek parametere (haftalık vücut ağırlığı takibi) değerlendirilmiştir. Bu durum, tartrazin alan gruplarda meydana gelen mikrobiyota değişimi ile olası sağlık etkileri arasında güçlü ilişkiler kurmayı zorlaştırmıştır. Buna karşın elde edilen verilerin, ileri çalışmalara konu olabilecek pek çok öncül hipotezi literatüre kazandırdığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonuçlarından elde edilen verilere göre;

- Peripubertal dönemden itibaren on iki hafta boyunca ADI düzeyinde tartrazin tüketimi, erkek sıçanlarda vücut ağırlığı artış oranını kontrol grubuna kıyasla düşürmüştür ($p<0,001$). Dişi sıçanlarda ise, aynı süre ve dozdaki tartrazin tüketimi, kontrol ve müdahale grubunun ağırlık artış oranları arasında anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($p=0,645$).
- Peripubertal dönemden itibaren on iki hafta boyunca ADI düzeyinde tartrazin tüketimi, bağırsak mikrobiyotasını zamana ve cinsiyete bağımlı olarak değiştirmiştir.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Proteobacteria* filumu artmış; *Firmicutes* filumu azalmıştır. *Bacteroidetes* filumu her iki grupta da azalmış ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Gammaproteobacteria* sınıfı artmış; *Bacilli* sınıfı azalmıştır. *Bacteroidia* sınıfı her iki grupta da azalmış ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Enterobacteriales* takımı artmıştır. *Bacteroidales*, *Lactobacilliales* ve *Bifidobacteriales* takımları, her iki grupta da azalmış ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Enterobacteriaceae* familyası artmıştır. *Bacteroidaceae*, *Lactobacillaceae* ve *Bifidobacteriaceae* familyaları, her iki grupta da azalmış ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Escherichia* (özellikle *E.albertii*) cinsi artmıştır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri, her iki grupta da azalmış ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Erkek sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrollere benzer şekilde *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı başlangıç noktasına kıyasla artış göstermiştir. Ancak tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır.

- Erkek sıçanlarda on iki haftalık tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, Shannon çeşitlilik indeksi ile değerlendirilen bakteri çeşitliliği başlangıç noktasına kıyasla düşmüştür ($p<0,001$).
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Proteobacteria* filumunun ivmelenme şiddeti düşerken, *Bacteroidetes* filumunun nispi çokluğu artmıştır. *Firmicutes* filumunun nispi çokluğu, her iki grupta da azalmış, ancak tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır.
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Gammaproteobacteria* sınıfının ivmelenme şiddeti düşerken, *Bacteroidia* sınıfının nispi çokluğu artmıştır. *Bacilli* ve *Actinobacteria* sınıflarının nispi çokluğu, her iki grupta da azalmış, ancak tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır. *Clostridia* sınıfının ise nispi çokluğu her iki grupta da artmış, ancak tartrazin alan gruptaki mutlak değişim daha fazla olmuştur.
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Enterobacteriales* takımının ivmelenme şiddeti düşerken, *Clostridiales* ve *Bacteroidales* takımlarının nispi çokluğu artmıştır. *Lactobacilliales* ve *Bifidobacteriales* takımları, her iki grupta da azalmış ancak tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır.
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Enterobacteriaceae* familyasının ivmelenme şiddeti düşerken, *Bacteroidaceae*, *Veillonellaceae* ve *Ruminococcaceae* familyalarının nispi çokluğu kontrol grubunun aksine artmıştır. *Lactobacillaceae* ve *Bifidobacteriaceae* familyalarında her iki grupta da zamana bağlı bir düşüş meydana gelmekle birlikte, tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır.
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak, *Escherichia* ve *Serratia* (özellikle *E.albertii* ve *S.entomophia*) cinslerinin ivmelenme şiddeti düşerken, *Bacteroides* (özellikle *B.sartorii*) ve *Veillonella*'nın (özellikle *V.criceti*) nispi çokluğu kontrol grubunun aksine artmıştır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinde (özellikle *B.choerinum*) her iki grupta da zamana bağlı bir düşüş meydana gelmekle birlikte, tartrazin grubunda meydana gelen mutlak değişim, kontrol grubunun altında kalmıştır.
- Dişi sıçanlarda on iki hafta boyunca tartrazin tüketen grupta, kontrol grubunun aksine *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı başlangıç noktasına kıyasla azalmıştır.
- Dişi sıçanlarda on iki haftalık tartrazin tüketen grupta, kontrolden farklı olarak,

Shannon çeşitlilik indeksi ile değerlendirilen bakteri çeşitliliği başlangıç noktasına kıyasla artmıştır ($p<0,001$).

Bu sonuçlar, ADI seviyesinde tartrazin tüketiminin dahi bağırsak mikrobiyotasında cinsiyete özgü birtakım değişikliklerle sonuçlanabileceğine işaret etmektedir. Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen bu değişimler ile konak sağlığı arasında bağlantı kurabilmek adına her iki cinsiyet grubunun ayrı ayrı modellendiği ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir. Literatüre kazandırılacak bu yeni veriler ile, ileri dönemlerde, gıda katkı maddelerinin güvenilirliğinin değerlendirilmesinde mikrobiyota analizlerinin de sürece dahil edilebileceği öngörülmektedir.

Gıda katkı maddelerine ilişkin maruziyetin azaltılabilmesi adına özellikle adölesan yaştaki çocuklarda yeterli, dengeli ve sağlıklı diyet modellerinin tercih edilmesi önemlidir. Mikrobiyotanın da şekillenmeye başladığı erken dönemde, çocukların tüketimine özel üretilen besinlerde gıda katkı maddelerinin sınırlandırılmasına yönelik ulusal politikaların oluşturulmasının toplum sağlığının geliştirilmesi adına atılabilecek önemli bir adım olabileceği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Rahman, L. I. H. ve Morgan, X. C. (2023). Searching for a consensus among inflammatory bowel disease studies: a systematic meta-analysis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 29(1), 125–139. <https://doi.org/10.1093/IBD/IZAC194>
- Abrahamsson, T. R., Jakobsson, H. E., Andersson, A. F., Björkstén, B., Engstrand, L. & Jenmalm, M. C. (2012). Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(2), 434–440. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2011.10.025>
- Abrahamsson, T. R., Jakobsson, H. E., Andersson, A. F., Björkstén, B., Engstrand, L. & Jenmalm, M. C. (2014). Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clinical and Experimental Allergy : Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 44(6), 842–850. <https://doi.org/10.1111/CEA.12253>
- Ahn, S. B., Jun, D. W., Kang, B. K., Lim, J. H., Lim, S. & Chung, M. J. (2019). Randomized, double-blind, placebo-controlled study of a multispecies probiotic mixture in nonalcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*, 9(1), 5688. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42059-3>
- Alkanani, A. K., Hara, N., Gottlieb, P. A., Ir, D., Robertson, C. E., Wagner, B. D., Frank, D. N. & Zipris, D. (2015). Alterations in intestinal microbiota correlate with susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes*, 64(10), 3510–3520. <https://doi.org/10.2337/DB14-1847/-/DC1>
- Altveş, S., Yildiz, H. K. & Vural, H. C. (2020). Interaction of the microbiota with the human body in health and diseases. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(2), 23–32. <https://doi.org/10.12938/BMFH.19-023>
- Amchova, P., Kotolova, H. & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914–922. <https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2015.09.026>
- Ameur, F. Z., Mehedi, N., Soler Rivas, C., Gonzalez, A., Kheroua, O. & Saidi, D. (2020). Effect of tartrazine on digestive enzymatic activities: in vivo and in vitro studies. *Toxicological Research*, 36(2), 159. <https://doi.org/10.1007/S43188-019-00023-3>
- Amin, K. A., Abdel Hameid, H. & Abd Elstar, A. H. (2010). Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2994–2999. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2010.07.039>
- Amin, K. A. & Al-Shehri, F. S. (2018). Toxicological and safety assessment of tartrazine as a synthetic food additive on health biomarkers: A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(6), 139–149. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16300>
- Andoh, A., Kuzuoka, H., Tsujikawa, T., Nakamura, S., Hirai, F., Suzuki, Y., Matsui, T., Fujiyama, Y. & Matsumoto, T. (2012). Multicenter analysis of fecal microbiota profiles in Japanese patients with Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology*, 47(12), 1298–1307. <https://doi.org/10.1007/S00535-012-0605-0/TABLES/5>
- Andoh, A., Sakata, S., Koizumi, Y., Mitsuyama, K., Fujiyama, Y. & Benno, Y. (2007). Terminal

restriction fragment length polymorphism analysis of the diversity of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 13(8), 955–962. <https://doi.org/10.1002/IBD.20151>

Anhê, F. F., Roy, D., Pilon, G., Dudonné, S., Matamoros, S., Varin, T. V., Garofalo, C., Moine, Q., Desjardins, Y., Levy, E. & Marette, A. (2015). A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut*, 64(6), 872–883. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2014-307142>

Aparicio, M., Alba, C., Rodríguez, J. M. & Fernández, L. (2020). Microbiological and immunological markers in milk and infant feces for common gastrointestinal disorders: a pilot study. *Nutrients*, 12(3), 634. <https://doi.org/10.3390/NU12030634>

Ardern, K., Ram, F. S. F. & Lasserson, T. J. (2009). Tartrazine exclusion for allergic asthma. *Çinde Cochrane Database of Systematic Reviews* (Sayı 4). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000460>

Arefin, S., Hossain, M. S., Neshe, S. A., Rashid, M. M. O., Tohidul Amin, M. & Hussain, M. S. (2017). Tartrazine induced changes in physiological and biochemical parameters in Swiss albino mice, *Mus musculus*. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(3), 564–564. <https://doi.org/10.12991/marupj.319304>

Arrieta, M. C., Stiemsma, L. T., Dimitriu, P. A., Thorson, L., Russell, S., Yurist-Doutsch, S., Kuzeljevic, B., Gold, M. J., Britton, H. M., Lefebvre, D. L., Subbarao, P., Mandhane, P., Becker, A., McNagny, K. M., Sears, M. R., Kollmann, T., Mohn, W. W., Turvey, S. E. & Finlay, B. B. (2015). Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Science Translational Medicine*, 7(307), 307ra152. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAB2271>

Astbury, S., Atallah, E., Vijay, A., Aithal, G. P., Grove, J. I. & Valdes, A. M. (2020). Lower gut microbiome diversity and higher abundance of proinflammatory genus *Collinsella* are associated with biopsy-proven nonalcoholic steatohepatitis. *Gut Microbes*, 11(3), 569. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1681861>

Axon, A., May, F. E. B., Gaughan, L. E., Williams, F. M., Blain, P. G. & Wright, M. C. (2012). Tartrazine and sunset yellow are xenoestrogens in a new screening assay to identify modulators of human oestrogen receptor transcriptional activity. *Toxicology*, 298, 40–51. <https://doi.org/10.1621/datasets.02001>

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Gou, Y. K., Nagy, A., Semenkovich, C. F. & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723. https://doi.org/10.1073/PNAS.0407076101/SUPPL_FILE/07076TABLE4.PDF

Bajinka, O., Tan, Y., Abdelhalim, K. A., Özdemir, G. & Qiu, X. (2020). Extrinsic factors influencing gut microbes, the immediate consequences and restoring eubiosis. *AMB Express*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13568-020-01066-8/TABLES/1>

Barcik, W., Boutin, R. C. T., Sokolowska, M. & Finlay, B. B. (2020). The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma. *Immunity*, 52(2), 241. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.01.007>

- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G. S., Selvin, J., de Souza, R. S. C., van Overbeek, L., Singh, B. K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A. & Schlöter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00875-0/FIGURES/7>
- Bergström, A., Skov, T. H., Bahl, M. I., Roager, H. M., Christensen, L. B., Ejlerskov, K. T., Mølgaard, C., Michaelsen, K. F. & Licht, T. R. (2014). Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(9), 2889–2900. <https://doi.org/10.1128/AEM.00342-14>
- Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H. & Lu, K. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *Plos One*, 12(6), e0178426. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0178426>
- Bibbò, S., Ianiro, G., Giorgio, V., Scaldaferrì, F., Masucci, L., Gasbarrini, A. & Cammarota, G. (2016). The role of diet on gut microbiota composition. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(22), 4742–4749. <http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/4742-4749-The-role-of-diet-on-gut-microbiota-composition.pdf>
- Biology LibreTexts. (2023, 19 Ekim). Firmicutes. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_\(Boundless\)/08%3A_Microbial_Evolution_Phylogeny_and_Diversity/8.08%3A_Gram-Positive_Bacteria_and_Actinobacteria/8.8C%3A_Firmicutes](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_(Boundless)/08%3A_Microbial_Evolution_Phylogeny_and_Diversity/8.08%3A_Gram-Positive_Bacteria_and_Actinobacteria/8.8C%3A_Firmicutes)
- Brint, E. K., MacSharry, J., Fanning, A., Shanahan, F. & Quigley, E. M. M. (2011). Differential expression of toll-like receptors in patients with irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 106(2), 329–336. <https://doi.org/10.1038/AJG.2010.438>
- Cao, Y., Liu, H., Qin, N., Ren, X., Zhu, B. & Xia, X. (2020). Impact of food additives on the composition and function of gut microbiota: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 295–310. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.03.006>
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P. & Ferreira, I. C. F. R. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Çinde Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (C. 13, Sayı 4, ss. 377–399). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12065>
- Chakaroun, R. M., Massier, L. & Kovacs, P. (2020). Gut microbiome, intestinal permeability, and tissue bacteria in metabolic disease: perpetrators or bystanders? *Nutrients*, 12(4), 1082. <https://doi.org/10.3390/NU12041082>
- Chambers, E. S., Byrne, C. S., Morrison, D. J., Murphy, K. G., Preston, T., Tedford, C., Garcia-Perez, I., Fountana, S., Serrano-Contreras, J. I., Holmes, E., Reynolds, C. J., Roberts, J. F., Boyton, R. J., Altmann, D. M., McDonald, J. A. K., Marchesi, J. R., Akbar, A. N., Riddell, N. E., Wallis, G. A. & Frost, G. S. (2019). Dietary supplementation with inulin-propionate ester or inulin improves insulin sensitivity in adults with overweight and obesity with distinct effects on the gut microbiota, plasma metabolome and systemic inflammatory responses: a randomised cross-over trial. *Gut*, 68(8), 1430–1438. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2019-318424>

- Chambers, E. S., Viardot, A., Psichas, A., Morrison, D. J., Murphy, K. G., Zac-Varghese, S. E. K., MacDougall, K., Preston, T., Tedford, C., Finlayson, G. S., Blundell, J. E., Bell, J. D., Thomas, E. L., Mt-Isa, S., Ashby, D., Gibson, G. R., Kolida, S., Dhillon, W. S., Bloom, S. R., Morley, W. & Frost, G. (2015). Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut*, 64(11), 1744–1754. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2014-307913>
- Checa-Ros, A., Jeréz-Calero, A., Molina-Carballo, A., Campoy, C. & Muñoz-Hoyos, A. (2021). Current evidence on the role of the gut microbiome in adhd pathophysiology and therapeutic implications. *Nutrients*, 13(1), 1–32. <https://doi.org/10.3390/NU13010249>
- Cheeseman, M. A. (2012). Artificial food color additives and child behavior. *Environmental Health Perspectives*, 120(1). <https://doi.org/10.1289/EHP.1104409>
- Chen, J., Wright, K., Davis, J. M., Jeraldo, P., Marietta, E. V., Murray, J., Nelson, H., Matteson, E. L. & Taneja, V. (2016). An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Medicine*, 8(1), 43. <https://doi.org/10.1186/S13073-016-0299-7>
- Chen, Y. huan, Bai, J., Wu, D., Yu, S. fen, Qiang, X. ling, Bai, H., Wang, H. ning & Peng, Z. wu. (2019). Association between fecal microbiota and generalized anxiety disorder: Severity and early treatment response. *Journal of Affective Disorders*, 259, 56–66. <https://doi.org/10.1016/J.JAD.2019.08.014>
- Codex Alimentarius Commission. (1995). *General Standards for Food Additives*.
- Costa, C. S., Del-Ponte, B., Assunção, M. C. F. & Santos, I. S. (2018). Consumption of ultra-processed foods and body fat during childhood and adolescence: a systematic review. *Public Health Nutrition*, 21(1), 148–159. <https://doi.org/10.1017/S1368980017001331>
- Crovesy, L., Ostrowski, M., Ferreira, D. M. T. P., Rosado, E. L. & Soares-Mota, M. (2017). Effect of Lactobacillus on body weight and body fat in overweight subjects: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *International Journal of Obesity* 2017 41:11, 41(11), 1607–1614. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.161>
- Cullen, C. M., Aneja, K. K., Beyhan, S., Cho, C. E., Woloszynek, S., Convertino, M., McCoy, S. J., Zhang, Y., Anderson, M. Z., Alvarez-Ponce, D., Smirnova, E., Karstens, L., Dorrestein, P. C., Li, H., Sen Gupta, A., Cheung, K., Powers, J. G., Zhao, Z. & Rosen, G. L. (2020). Emerging priorities for microbiome research. *Frontiers in Microbiology*, 11, 136. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00136>
- De Goffau, M. C., Fuentes, S., Van Den Bogert, B., Honkanen, H., De Vos, W. M., Welling, G. W., Hyöty, H. & Harmsen, H. J. M. (2014). Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia*, 57(8), 1569–1577. <https://doi.org/10.1007/S00125-014-3274-0>
- De Goffau, M. C., Luopajarvi, K., Knip, M., Ilonen, J., Ruotula, T., Härkönen, T., Orivuori, L., Hakala, S., Welling, G. W., Harmsen, H. J. & Vaarala, O. (2013). Fecal microbiota composition differs between children with β -cell autoimmunity and those without. *Diabetes*, 62(4), 1238–1244. <https://doi.org/10.2337/DB12-0526>
- De La Serre, C. B., Ellis, C. L., Lee, J., Hartman, A. L., Rutledge, J. C. & Raybould, H. E. (2010). Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota

- and gut inflammation. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 299(2), G440. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00098.2010>
- De Weerth, C., Fuentes, S., Puylaert, P. & De Vos, W. M. (2013). Intestinal microbiota of infants with colic: Development and specific signatures. *Pediatrics*, 131(2), e550. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1449>
- Depommier, C., Everard, A., Druart, C., Plovier, H., Van Hul, M., Vieira-Silva, S., Falony, G., Raes, J., Maiter, D., Delzenne, N. M., de Barse, M., Loumaye, A., Hermans, M. P., Thissen, J. P., de Vos, W. M. & Cani, P. D. (2019). Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nature Medicine*, 25(7), 1096–1103. <https://doi.org/10.1038/S41591-019-0495-2>
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N. & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1002601107/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Dorozyńska, I., Majewska-Szczepanik, M., Marcińska, K. & Szczepanik, M. (2014). Partial depletion of natural gut flora by antibiotic aggravates collagen induced arthritis (CIA) in mice. *Pharmacological Reports : PR*, 66(2), 250–255. <https://doi.org/10.1016/J.PHAREP.2013.09.007>
- Duan, M., Wang, Y., Zhang, Q., Zou, R., Guo, M. & Zheng, H. (2021). Characteristics of gut microbiota in people with obesity. *Plos One*, 16(8), e0255446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255446>
- EFSA. (2008). *Food additives*. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-additives>
- EFSA. (2009). Scientific opinion on the re-evaluation tartrazine (E 102). *EFSA Journal*, 7(11), 1331. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1331>
- EFSA. (2012). Guidance for submission for food additive evaluations. *EFSA Journal*, 10(7), 2760. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2012.2760>
- El-Desoky, G. E., Abdel-Ghaffar, A., Al-Othman, Z. A., Habila, M. A., Al-Sheikh, Y. A., Ghneim, H. K., Giesy, J. P. & Aboul-Soud, M. A. M. (2017). Curcumin protects against tartrazine-mediated oxidative stress and hepatotoxicity in male rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(3), 635–645.
- Elhkim, M. O., Héraud, F., Bemrah, N., Gauchard, F., Lorino, T., Lambré, C., Frémy, J. M. & Poul, J. M. (2007). New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47(3), 308–316. <https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2006.11.004>
- Ersoy Omeroglu, E., Sudagidan, M., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E. & Ozalp, V. C. (2021). Microbial community of soda Lake Van as obtained from direct and enriched water, sediment and fish samples. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-021-97980-3>
- Ezeuko, V. C., Nwokocha, C. R., Mounmbegna, P. E. & Nriagu, C. C. (2007). Effects of zingiber

- officinale on liver function of mercuric chloride-induced hepatotoxicity in adult Wistar rats. *Electron J Biomed*, 3, 40–45. <https://www.biomed.uninet.edu/2007/n3/vitalis.html>
- Fava, S. (2014). Glucagon-like peptide 1 and the cardiovascular system. *Current Diabetes Reviews*, 10(5), 302–310. <https://doi.org/10.2174/1573399810666141030125830>
- Fei, N. & Zhao, L. (2013). An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *The ISME Journal*, 7(4), 880. <https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2012.153>
- Ford, A. C., Harris, L. A., Lacy, B. E., Quigley, E. M. M. & Moayyedi, P. (2018). Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 48(10), 1044–1060. <https://doi.org/10.1111/APT.15001>
- Fрати, F., Salvatori, C., Incorvaia, C., Bellucci, A., Di Cara, G., Marcucci, F. & Esposito, S. (2019). The role of the microbiome in asthma: the gut–lung axis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 123. <https://doi.org/10.3390/IJMS20010123>
- Fusco, W., Lorenzo, M. B., Cintoni, M., Porcari, S., Rinninella, E., Kaitsas, F., Lener, E., Mele, M. C., Gasbarrini, A., Collado, M. C., Cammarota, G. & Ianiro, G. (2023). Short-chain fatty-acid-producing bacteria: key components of the human gut microbiota. *Nutrients*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/NU15092211>
- Gao, Y., Li, C., Shen, J., Yin, H., An, X. & Jin, H. (2011). Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. *Journal of Food Science*, 76(6), T125–T129. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2011.02267.X>
- Gevers, D., Kugathasan, S., Denson, L. A., Vázquez-Baeza, Y., Van Treuren, W., Ren, B., Schwager, E., Knights, D., Song, S. J., Yassour, M., Morgan, X. C., Kostic, A. D., Luo, C., González, A., McDonald, D., Haberman, Y., Walters, T., Baker, S., Rosh, J., Stephens, M., Heyman, M., Markowitz, J., Baldassano, R., Griffiths, A., Sylvester, F., Mack, D., Kim, S., Crandall, W., Hyams, J., Huttenhower, C., Knight, R. & Xavier, R. J. (2014). The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host & Microbe*, 15(3), 382. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2014.02.005>
- Goldman, E. & Green, L. H. (2021). Practical handbook of microbiology: Third edition. İçinde *Practical Handbook of Microbiology, Third Edition*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b17871>
- Gophna, U., Sommerfeld, K., Gophna, S., Doolittle, W. F. & Veldhuyzen Van Zanten, S. J. O. (2006). Differences between tissue-associated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(11), 4136–4141. https://doi.org/10.1128/JCM.01004-06/SUPPL_FILE/TABLE_S2.DOC
- Guendouz, M., Mehedi, N., Zaoui, C., Saidi, D. & Kheroua, O. (2013). Immune response after Tartrazine subchronic ingestion in swiss albino mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 584–592.
- Gultekin, F., Oner, M. E., Savas, H. B. & Dogan, B. (2020). Food additives and microbiota. *North Clin Istanbul*, 7(2), 192–200. <https://doi.org/10.14744/nci.2019.92499>
- Guo, X., Huang, C., Xu, J., Xu, H., Liu, L., Zhao, H., Wang, J., Huang, W., Peng, W., Chen, Y., Nie,

- Y., Zhou, Y. & Zhou, Y. (2022). Gut microbiota is a potential biomarker in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Nutrition*, 8, 818902. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.818902/BIBTEX>
- Gurung, M., Li, Z., You, H., Rodrigues, R., Jump, D. B., Morgun, A. & Shulzhenko, N. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 51, 102590. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2019.11.051>
- Hammer, D. A. T., Ryan, P. D., Hammer, Ø. & Harper, D. A. T. (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 178. http://palaeo-electronica.orghttp://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- Hansen, R., Scott, K. P., Khan, S., Martin, J. C., Berry, S. H., Stevenson, M., Okpapi, A., Munro, M. J. & Hold, G. L. (2015). First-pass meconium samples from healthy term vaginally-delivered neonates: an analysis of the microbiota. *Plos One*, 10(7), e0133320. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0133320>
- Hasan, N. & Yang, H. (2019). Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ*, 7(8), e7502. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.7502>
- Heiss, C. N. & Olofsson, L. E. (2018). Gut microbiota-dependent modulation of energy metabolism. *Journal of Innate Immunity*, 10(3), 163–171. <https://doi.org/10.1159/000481519>
- Hemmings, S. M. J., Malan-Müller, S., Van Den Heuvel, L. L., Demmitt, B. A., Stanislawski, M. A., Smith, D. G., Bohr, A. D., Stamper, C. E., Hyde, E. R., Morton, J. T., Marotz, C. A., Siebler, P. H., Braspenning, M., Van Crielinge, W., Hoisington, A. J., Brenner, L. A., Postolache, T. T., McQueen, M. B., Krauter, K. S., Knight, R., Sonaya, S. & Lowry, C. A. (2017). The microbiome in posttraumatic stress disorder and trauma-exposed controls: an exploratory study. *Psychosomatic Medicine*, 79(8), 936–946. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000512>
- Hidalgo-Cantabrana, C., Delgado, S., Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Sánchez, B. & Margolles, A. (2017). Bifidobacteria and their health-promoting effects. *Microbiology Spectrum*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.BAD-0010-2016/ASSET/8B89FA58-B747-4920-A77F-C4F7A5187FBF/ASSETS/GRAPHIC/BAD-0010-2016-FIG2.GIF>
- Holder, M. K., Peters, N. V., Whylings, J., Fields, C. T., Gewirtz, A. T., Chassaing, B. & de Vries, G. J. (2019). Dietary emulsifiers consumption alters anxiety-like and social-related behaviors in mice in a sex-dependent manner. *Scientific Reports*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36890-3>
- Houtman, T. A., Eckermann, H. A., Smidt, H. & de Weerth, C. (2022). Gut microbiota and BMI throughout childhood: the role of firmicutes, bacteroidetes, and short-chain fatty acid producers. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-022-07176-6>
- Hoyles, L., Fernández-Real, J. M., Federici, M., Serino, M., Abbott, J., Charpentier, J., Heymes, C., Luque, J. L., Anthony, E., Barton, R. H., Chilloux, J., Myridakis, A., Martinez-Gili, L., Moreno-Navarrete, J. M., Benhamed, F., Azalbert, V., Blasco-Baque, V., Puig, J., Xifra, G., Ricard, W., Tomlinson, C., Woodbridge, M., Cardellini, M., Davato, F., Cardolini, I., Porzio, O., Gentileschi, P., Lopez, F., Foufelle, F., Butcher, S. A., Holmes, E., Nicholson J. K., Postic, C., Burcelin, R. & Dumas, M. E. (2018). Molecular phenomics and metagenomics of hepatic steatosis in non-diabetic obese women. *Nature Medicine* 24:7, 24(7), 1070–1080. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0061-3>

- Hu, J., Nomura, Y., Bashir, A., Fernandez-Hernandez, H., Itzkowitz, S., Pei, Z., Stone, J., Loudon, H. & Peter, I. (2013). Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. *Plos One*, 8(11), e78257. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0078257>
- Hutcheson, K. (1970). A test for comparing diversities based on the Shannon formula. *Journal of Theoretical Biology*, 29(1), 151–154. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(70\)90124-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(70)90124-4)
- Iebba, V., Guerrieri, F., Di Gregorio, V., Levvero, M., Gagliardi, A., Santangelo, F., Sobolev, A. P., Circi, S., Giannelli, V., Mannina, L., Schippa, S. & Merli, M. (2018). Combining amplicon sequencing and metabolomics in cirrhotic patients highlights distinctive microbiota features involved in bacterial translocation, systemic inflammation and hepatic encephalopathy. *Scientific Reports*, 8(1), 8210. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-26509-Y>
- Illumina Inc. (2013). 16S Metagenomic Sequencing Library. İçinde *Illumina.com* (Sayı B). http://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf
- Indiani, C. M. D. S. P., Rizzardi, K. F., Castelo, P. M., Ferraz, L. F. C., Darrieux, M. & Parisotto, T. M. (2018). Childhood obesity and firmicutes/bacteroidetes ratio in the gut microbiota: a systematic review. *Childhood Obesity (Print)*, 14(8), 501–509. <https://doi.org/10.1089/CHI.2018.0040>
- Inetianbor, J., Yakubu, J. & Ezeonu, S. (2015). Effects of food additives and preservatives on man-a review research article effects of food additives and preservatives on man- a review. *Asian Journal of Science and Technology*, 6(2), 1118–1135.
- Jackson, M. A., Verdi, S., Maxan, M. E., Shin, C. M., Zierer, J., Bowyer, R. C. E., Martin, T., Williams, F. M. K., Menni, C., Bell, J. T., Spector, T. D. & Steves, C. J. (2018). Gut microbiota associations with common diseases and prescription medications in a population-based cohort. *Nature Communications*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05184-7>
- Jazani, N. H., Savoj, J., Lustgarten, M., Lau, W. L. & Vaziri, N. D. (2019). Impact of Gut Dysbiosis on Neurohormonal Pathways in Chronic Kidney Disease. *Diseases*, 7(1), 21. <https://doi.org/10.3390/DISEASES7010021>
- Jiang, H. yin, Zhang, X., Yu, Z. he, Zhang, Z., Deng, M., Zhao, J. hua & Ruan, B. (2018). Altered gut microbiota profile in patients with generalized anxiety disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 104, 130–136. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2018.07.007>
- Johnson, K. V. A. & Foster, K. R. (2018). Why does the microbiome affect behaviour? *Nature Reviews Microbiology*, 16(10), 647–655. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0014-3>
- Kabeerdoss, J., Jayakanthan, P., Pugazhendhi, S. & Ramakrishna, B. S. (2015). Alterations of mucosal microbiota in the colon of patients with inflammatory bowel disease revealed by real time polymerase chain reaction amplification of 16S ribosomal ribonucleic acid. *The Indian Journal of Medical Research*, 142(1), 23. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.162091>
- Kalliomäki, M., Kirjavainen, P., Eerola, E., Kero, P., Salminen, S. & Isolauri, E. (2001). Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *The Journal of Allergy And Clinical Immunology*, 107(1), 129–134. <https://doi.org/10.1067/MAI.2001.111237>

- Kelly, J. R., Borre, Y., O' Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F. & Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109–118. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2016.07.019>
- Kelsey, C. M., Prescott, S., McCulloch, J. A., Trinchieri, G., Valladares, T. L., Dreisbach, C., Alhusen, J. & Grossmann, T. (2021). Gut microbiota composition is associated with newborn functional brain connectivity and behavioral temperament. *Brain, Behavior, and Immunity*, 91, 472–486. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2020.11.003>
- Khor, B., Gardet, A. & Xavier, R. J. (2011). Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), 307. <https://doi.org/10.1038/NATURE10209>
- Kim, Y. S., Unno, T., Kim, B. Y. & Park, M. S. (2020). Sex Differences in Gut Microbiota. *The World Journal of Men's Health*, 38(1), 48. <https://doi.org/10.5534/WJMH.190009>
- Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V., Gavalko, Y., Dorofeyev, A., Romanenko, M., Tkach, S., Sineok, L., Lushchak, O. & Vaiserman, A. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC microbiology*, 17(1), 120. <https://doi.org/10.1186/S12866-017-1027-1>
- Kostic, A. D., Xavier, R. J. & Gevers, D. (2014). The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*, 146(6), 1489–1499. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2014.02.009>
- Lam, V., Su, J., Koprowski, S., Hsu, A., Tweddell, J. S., Rafiee, P., Gross, G. J., Salzman, N. H. & Baker, J. E. (2012). Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 26(4), 1727–1735. <https://doi.org/10.1096/FJ.11-197921>
- Larsen, N., Vogensen, F. K., Van Den Berg, F. W. J., Nielsen, D. S., Andreasen, A. S., Pedersen, B. K., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., Hansen, L. H. & Jakobsen, M. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *Plos One*, 5(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0009085>
- Laudisi, F., Stolfi, C. & Monteleone, G. (2019). Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/NU11102334>
- Laue, H. E., Korrick, S. A., Baker, E. R., Karagas, M. R. & Madan, J. C. (2020). Prospective associations of the infant gut microbiome and microbial function with social behaviors related to autism at age 3 years. *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72386-9>
- Lee, S. Y., Lee, E., Park, Y. M. & Hong, S. J. (2018). Microbiome in the gut-skin axis in atopic dermatitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 10(4), 354. <https://doi.org/10.4168/AAIR.2018.10.4.354>
- Leonard, M. M., Karathia, H., Pujolassos, M., Troisi, J., Valitutti, F., Subramanian, P., Camhi, S., Kenyon, V., Colucci, A., Serena, G., Cucchiara, S., Montuori, M., Malamisura, B., Francavilla, R., Elli, L., Fanelli, B., Colwell, R., Hasan, N., Zomorodi, A. R., Fasano, A. & CD-GEMM Team. (2020). Multi-omics analysis reveals the influence of genetic and environmental risk factors on

- developing gut microbiota in infants at risk of celiac disease. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00906-w>
- Lepage, P., Hösler, R., Spehlmann, M. E., Rehman, A., Zvirbliene, A., Begun, A., Ott, S., Kupcinskas, L., Doré, J., Raedler, A. & Schreiber, S. (2011). Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 141(1), 227–236. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2011.04.011>
- Ley, R. E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. A., Knight, R. D. & Gordon, J. I. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(31), 11070–11075. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0504978102>
- Li, F. X., Wang, M. H., Wang, J. P., Li, R. S. & Zhang, Y. Q. (2019). Alterations to the gut microbiota and their correlation with inflammatory factors in chronic kidney disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 206. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2019.00206>
- Liu, D., Ainsworth, A. J., Austin, F. W. & Lawrence, M. L. (2004). Use of PCR primers derived from a putative transcriptional regulator gene for species-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 91(3), 297–304. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2003.07.004>
- Livanos, A. E., Greiner, T. U., Vangay, P., Pathmasiri, W., Stewart, D., McRitchie, S., Li, H., Chung, J., Sohn, J., Kim, S., Gao, Z., Barber, C., Kim, J., Ng, S., Rogers, A. B., Sumner, S., Zhang, X. S., Cadwell, K., Knights, D., Aleseyenko, A., Backhed, F. & Blaser, M. J. (2016). Antibiotic-mediated gut microbiome perturbation accelerates development of type 1 diabetes in mice. *Nature Microbiology*, 1(11). <https://doi.org/10.1038/NMICROBIOL.2016.140>
- Maffei, C., Martina, A., Corradi, M., Quarella, S., Nori, N., Torriani, S., Plebani, M., Contreas, G. & Felis, G. E. (2016). Association between intestinal permeability and faecal microbiota composition in Italian children with beta cell autoimmunity at risk for type 1 diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 32(7), 700–709. <https://doi.org/10.1002/DMRR.2790>
- Malard, F., Dore, J., Gaugler, B. & Mohty, M. (2021). Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease. *Çinde Mucosal Immunology* (C. 14, Sayı 3, ss. 547–554). Elsevier. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-00365-4>
- Manichanh, C., Borruel, N., Casellas, F. & Guarner, F. (2012). The gut microbiota in IBD. *Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 9(10), 599–608. <https://doi.org/10.1038/NRGASTRO.2012.152>
- Marchesi, J. R., Holmes, E., Khan, F., Kochhar, S., Scanlan, P., Shanahan, F., Wilson, I. D. & Wang, Y. (2007). Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease. *Journal of Proteome Research*, 6(2), 546–551. <https://doi.org/10.1021/PR060470D>
- Martinez, C., Antolin, M., Santos, J., Torrejon, A., Casellas, F., Borruel, N., Guarner, F. & Malagelada, J. R. (2008). Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *The American Journal of Gastroenterology*, 103(3), 643–648. <https://doi.org/10.1111/J.1572-0241.2007.01592.X>
- Masone, D. & Chanforan, C. (2015). Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: A computational point of view. *Computational Biology and*

- Matsuoka, K. & Kanai, T. (2015). The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Seminars in Immunopathology*, 37(1), 47. <https://doi.org/10.1007/S00281-014-0454-4>
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J. O. & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370(9598), 1560–1567. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3)
- Mejía-León, M. E., Petrosino, J. F., Ajami, N. J., Domínguez-Bello, M. G. & De La Barca, A. M. C. (2014). Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Scientific Reports*, 4, 3814. <https://doi.org/10.1038/SREP03814>
- Meyer, S. K., Probert, P. M. E., Lakey, A. F., Axon, A. R., Leitch, A. C., Williams, F. M., Jowsey, P. A., Blain, P. G., Kass, G. E. N. & Wright, M. C. (2017). Hepatic effects of tartrazine (E 102) after systemic exposure are independent of oestrogen receptor interactions in the mouse. *Toxicology Letters*, 273, 55–68. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.03.024>
- Michail, S., Lin, M., Frey, M. R., Fanter, R., Paliy, O., Hilbush, B. & Reo, N. V. (2015). Altered gut microbial energy and metabolism in children with non-alcoholic fatty liver disease. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(2), 1. <https://doi.org/10.1093/FEMSEC/FIU002>
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turroni, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arbolea Montes, S., Mancabelli, L., Lugli, G. A., Rodriguez, J. M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., van Sinderen, D. & Ventura, M. (2017). The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4), e00036-17. <https://doi.org/10.1128/mmmbr.00036-17>
- Million, M., Maraninchi, M., Henry, M., Armougom, F., Richet, H., Carrieri, P., Valero, R., Raccach, D., Viallettes, B. & Raoult, D. (2011). Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *International Journal of Obesity* 2012 36:6, 36(6), 817–825. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.153>
- Mirpuri, J., Raetz, M., Sturge, C. R., Wilhelm, C. L., Benson, A., Savani, R. C., Hooper, L. V. & Yarovinsky, F. (2014). Proteobacteria-specific IgA regulates maturation of the intestinal microbiota. *Gut Microbes*, 5(1), 28. <https://doi.org/10.4161/GMIC.26489>
- Moreno-Navarrete, J. M., Serino, M., Blasco-Baque, V., Azalbert, V., Barton, R. H., Cardellini, M., Latorre, J., Ortega, F., Sabater-Masdeu, M., Burcelin, R., Dumas, M. E., Ricart, W., Federici, M. & Fernández-Real, J. M. (2018). Gut microbiota interacts with markers of adipose tissue browning, insulin action and plasma acetate in morbid obesity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(3), 1700721. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201700721>
- Mosca, A., Leclerc, M. & Hugot, J. P. (2016). Gut microbiota diversity and human diseases: Should we reintroduce key predators in our ecosystem? *Frontiers in Microbiology*, 7, 455. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.00455/BIBTEX>
- Mottawea, W., Chiang, C. K., Mühlbauer, M., Starr, A. E., Butcher, J., Abujamel, T., Deeke, S. A., Brandel, A., Zhou, H., Shokralla, S., Hajibabaei, M., Singleton, R., Benchimol, E. I., Jobin, C.,

- Mack, D. R., Figeys, D. & Stintzi, A. (2016). Altered intestinal microbiota–host mitochondria crosstalk in new onset Crohn’s disease. *Nature Communications* 2016 7:1, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/ncomms13419>
- Mpountoukas, P., Pantazaki, A., Kostareli, E., Christodoulou, P., Kareli, D., Poliliou, S., Mourelatos, C., Lambropoulou, V. & Lialiaris, T. (2010). Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2934–2944. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.030>
- Nagpal, R., Tsuji, H., Takahashi, T., Kawashima, K., Nagata, S., Nomoto, K. & Yamashiro, Y. (2016). Sensitive quantitative analysis of the meconium bacterial microbiota in healthy term infants born vaginally or by cesarean section. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1997. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01997>
- Nettis, E., Colanardi, M. C., Ferrannini, A. & Tursi, A. (2003). Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral rechallenge. *Clinical and Experimental Allergy*, 33(12), 1725–1729. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2222.2003.01825.X>
- Nigg, J. T., Lewis, K., Edinger, T. & Falk, M. (2012). Meta-analysis of attention-deficit/hyperactivity disorder or attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms, restriction diet, and synthetic food color additives. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 51(1), 86–97.e8. <https://doi.org/10.1016/J.JAAC.2011.10.015>
- Odamaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Hashikura, N., Takahashi, S., Xiao, J. Z., Abe, F. & Osawa, R. (2016). Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: A cross-sectional study. *BMC Microbiology*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0708-5>
- Onal, E. M., Afsar, B., Covic, A., Vaziri, N. D. & Kanbay, M. (2019). Gut microbiota and inflammation in chronic kidney disease and their roles in the development of cardiovascular disease. *Hypertension Research : Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 42(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/S41440-018-0144-Z>
- Org, E., Mehrabian, M., Parks, B. W., Shipkova, P., Liu, X., Drake, T. A. & Lusi, A. J. (2016). Sex differences and hormonal effects on gut microbiota composition in mice. *Gut Microbes*, 7(4), 313–322. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1203502>
- Ortiz-Burgos, S. (2016). Shannon-weaver diversity index. *Encyclopedia of Earth Sciences Series*, 572–573. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_233/COVER
- Ott, S. J., Musfeldt, M., Wenderoth, D. F., Hampe, J., Brant, O., Fölsch, U. R., Timmis, K. N. & Schreiber, S. (2004). Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut*, 53(5), 685–693. <https://doi.org/10.1136/GUT.2003.025403>
- Ouwehand, A., Isolauri, E. & Salminen, S. (2002). The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *European Journal of Nutrition*, 41(1), 32–37. <https://doi.org/10.1007/S00394-002-1105-4>
- Palmu, J., Salosensaari, A., Havulinna, A. S., Cheng, S., Inouye, M., Jain, M., Salido, R. A., Sanders, K., Brennan, C., Humphrey, G. C., Sanders, J. G., Vartiainen, E., Laatikainen, T., Jousilahti, P., Salomaa, V., Knight, R., Lahti, L. & Niiranen, T. J. (2020). Association between the gut microbiota and blood pressure in a population cohort of 6953 individuals. *Journal of the American*

Heart Association, 9(15), e016641. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.016641>

- Paone, P. & Cani, P. D. (2020). Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut*, 69(12), 2232–2243. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-322260>
- Parzanese, I., Qehajaj, D., Patrinicola, F., Aralica, M., Chiriva-Internati, M., Stifter, S., Elli, L. & Grizzi, F. (2017). Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 8(2), 27. <https://doi.org/10.4291/WJGP.V8.I2.27>
- Pascal, M., Perez-Gordo, M., Caballero, T., Escribese, M. M., Lopez Longo, M. N., Luengo, O., Manso, L., Matheu, V., Seoane, E., Zamorano, M., Labrador, M. & Mayorga, C. (2018). Microbiome and allergic diseases. *Frontiers in Immunology*, 9, 1584. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01584/BIBTEX>
- Pinart, M., Dötsch, A., Schlicht, K., Laudes, M., Bouwman, J., Forslund, S. K., Pischon, T. & Nimptsch, K. (2022). Gut microbiome composition in obese and non-obese persons: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/NU14010012/S1>
- Pittayanon, R., Lau, J. T., Yuan, Y., Leontiadis, G. I., Tse, F., Surette, M. & Moayyedi, P. (2019). Gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome-a systematic review. *Gastroenterology*, 157(1), 97–108. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2019.03.049>
- Rahat-Rozenbloom, S., Fernandes, J., Gloor, G. B. & Wolever, T. M. S. (2014). Evidence for greater production of colonic short chain fatty acids in overweight than lean humans. *International Journal of Obesity (2005)*, 38(12), 1525. <https://doi.org/10.1038/IJO.2014.46>
- Rajilić-Stojanović, M., Biagi, E., Heilig, H. G. H. J., Kajander, K., Kekkonen, R. A., Tims, S. & De Vos, W. M. (2011). Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 141(5), 1792–1801. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2011.07.043>
- Ramesh, M. & Muthuraman, A. (2018). Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems. *Içinde Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes: Handbook of Food Bioengineering* (C. 7). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-00380-7>
- Ranjani Anandan, D. D. and G. P. M. (2016). An introduction to Actinobacteria. *Basics and Biotechnological Applications, September*, 3–38. <https://doi.org/10.5772/62329>
- RASFF. (2021). *Rapid Alert System for Food and Feed - piveau Hub-UI*. https://data.europa.eu/data/datasets/restored_rasff?locale=en
- RASFF. (2023). *Window - Search*. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search>
- Ren, N., Xing, D., Rittmann, B. E., Zhao, L., Xie, T. & Zhao, X. (2007). Microbial community structure of ethanol type fermentation in bio-hydrogen production. *Environmental Microbiology*, 9(5), 1112–1125. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2006.01234.X>
- Rhoads, J. M., Collins, J., Fatheree, N. Y., Hashmi, S. S., Taylor, C. M., Luo, M., Hoang, T. K., Gleason, W. A., Van Arsdall, M. R., Navarro, F. & Liu, Y. (2018). Infant colic represents gut inflammation and dysbiosis. *The Journal of Pediatrics*, 203, 55. <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2018.07.042>

- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiaro, G. A. D., Gasbarrini, A. & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7010014>
- Rizzatti, G., Lopetuso, L. R., Gibiino, G., Binda, C. & Gasbarrini, A. (2017). Proteobacteria: a common factor in human diseases. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9351507>
- Ruiz, L., Delgado, S., Ruas-Madiedo, P., Sánchez, B. & Margolles, A. (2017). Bifidobacteria and their molecular communication with the immune system. *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02345>
- Salah, M., Azab, M., Ramadan, A. & Hanora, A. (2019). New insights on obesity and diabetes from gut microbiome alterations in egyptian adults. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 23(10), 477–485. https://doi.org/10.1089/OMI.2019.0063/SUPPL_FILE/SUPP_TABLES2.XLSX
- Saltmarsh, M. & Lynn, I. (2013). Food additives and why they are used? İçinde M. Saltmarsh (Ed.), *Essential Guide to Food Additives* (4th baskı, ss. 1–12). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2006.00211.x>
- Schab, D. W. & Trinh, N. H. T. (2004). Do artificial food colors promote hyperactivity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double-blind placebo-controlled trials. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, 25(6), 423–434. <https://doi.org/10.1097/00004703-200412000-00007>
- Scher, J. U., Sczesnak, A., Longman, R. S., Segata, N., Ubeda, C., Bielski, C., Rostron, T., Cerundolo, V., Pamer, E. G., Abramson, S. B., Huttenhower, C. & Littman, D. R. (2013). Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife*, 2013(2), e01202. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.01202.001>
- Sengupta, P. (2013). The laboratory rat: relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(6), 624. [/pmc/articles/PMC3733029/](https://doi.org/10.1186/1745-6215-4-624)
- Shen, F., Zheng, R. D., Sun, X. Q., Ding, W. J., Wang, X. Y. & Fan, J. G. (2017). Gut microbiota dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 16(4), 375–381. [https://doi.org/10.1016/S1499-3872\(17\)60019-5](https://doi.org/10.1016/S1499-3872(17)60019-5)
- Shen, X., Wang, M., Zhang, X., He, M., Li, M., Cheng, G., Wan, C. & He, F. (2019). Dynamic construction of gut microbiota may influence allergic diseases of infants in Southwest China. *BMC Microbiology*, 19(1), 123. <https://doi.org/10.1186/S12866-019-1489-4>
- Silva, M. M. & Lidon, F. C. (2016). Food preservatives – an overview on applications and side effects. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(6), 366–373. <https://doi.org/10.9755/EJFA.2016-04-351>
- Sircana, A., De Michieli, F., Parente, R., Framarin, L., Leone, N., Berrutti, M., Paschetta, E., Bongiovanni, D. & Musso, G. (2019). Gut microbiota, hypertension and chronic kidney disease: Recent advances. *Pharmacological Research*, 144, 390–408. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2018.01.013>

- Sjögren, Y. M., Jenmalm, M. C., Böttcher, M. F., Björkstén, B. & Sverremark-Ekström, E. (2009). Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clinical and experimental allergy : Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 39(4), 518–526. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2222.2008.03156.X>
- Skondra, D., Rodriguez, S. H., Sharma, A., Gilbert, J., Andrews, B. & Claud, E. C. (2020). The early gut microbiome could protect against severe retinopathy of prematurity. *Journal of AAPOS : the official publication of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*, 24(4), 236–238. <https://doi.org/10.1016/J.JAAPOS.2020.03.010>
- Soares, B. M., Araújo, T. M. T., Ramos, J. A. B., Pinto, L. C., Khayat, B. M., De Oliveira Bahia, M., Montenegro, R. C., Burbano, R. M. R. G. & Khayat, A. S. (2015). Effects on DNA repair in human lymphocytes exposed to the food dye tartrazine yellow. *Anticancer Research*, 35(3), 1465–1474.
- Stojanov, S., Berlec, A. & Štrukelj, B. (2020). The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), 1715. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8111715>
- Strandwitz, P., Kim, K. H., Terekhova, D., Liu, J. K., Sharma, A., Levering, J., McDonald, D., Dietrich, D., Ramadhar, T. R., Lekbua, A., Mroue, N., Liston, C., Stewart, E. J., Dubin, M. J., Zengler, K., Knight, R., Gilbert, J. A., Clardy, J. & Lewis, K. (2019). GABA modulating bacteria of the human gut microbiota. *Nature Microbiology*, 4(3), 396. <https://doi.org/10.1038/S41564-018-0307-3>
- Sun, B. & Wang, J. (2017). Food additives. İçinde *Food Safety in China* (ss. 186–200). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119238102.ch12>
- Sun, S., Lulla, A., Sioda, M., Winglee, K., Wu, M. C., Jacobs, D. R., Shikany, J. M., Lloyd-Jones, D. M., Launer, L. J., Fodor, A. A. & Meyer, K. A. (2019). Gut microbiota composition and blood pressure. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 73(5), 998–1006. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12109>
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2023a). *Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve EFSA ile İlişkiler*. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/1960/efsa>
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2023b). *Hukuki Dayanak*. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/60/Hukuki-Dayanak>
- Tang, W. H. W., Kitai, T. & Hazen, S. L. (2017). Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circulation Research*, 120(7), 1183–1196. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309715>
- Tavella, T., Rampelli, S., Guidarelli, G., Bazzocchi, A., Gasperini, C., Pujos-Guillot, E., Comte, B., Barone, M., Biagi, E., Candela, M., Nicoletti, C., Kadi, F., Battista, G., Salvioli, S., O'Toole, P. W., Franceschi, C., Brigidi, P., Turrone, S. & Santoro, A. (2021). Elevated gut microbiome abundance of Christensenellaceae, Porphyromonadaceae and Rikenellaceae is associated with reduced visceral adipose tissue and healthier metabolic profile in Italian elderly. *Gut Microbes*, 13(1), 1–19. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1880221>
- Tolhurst, G., Heffron, H., Lam, Y. S., Parker, H. E., Habib, A. M., Diakogiannaki, E., Cameron, J., Grosse, J., Reimann, F. & Gribble, F. M. (2012). Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*, 61(2), 364–371. <https://doi.org/10.2337/DB11-1019>

- Tong, M., Li, X., Parfrey, L. W., Roth, B., Ippoliti, A., Wei, B., Borneman, J., McGovern, D. P. B., Frank, D. N., Li, E., Horvath, S., Knight, R. & Braun, J. (2013). A modular organization of the human intestinal mucosal microbiota and its association with inflammatory bowel disease. *Plos One*, 8(11), 80702. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0080702>
- Trasande, L., Shaffer, R. M., Sathyanarayana, S. & HEALTH, C. O. E. (2018). Food additives and child health. *Pediatrics*, 142(2). <https://doi.org/10.1542/PEDS.2018-1410>
- Tsuji, S., Tsuji, N., Sadeghpour Heravi, F. & Hu, H. (2023). Bifidobacterium: host–microbiome interaction and mechanism of action in preventing common gut-microbiota-associated complications in preterm infants: a narrative review. *Nutrients*, 15(3), 709. <https://doi.org/10.3390/NU15030709>
- Türk Gıda Kodeksi. (2013). *Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği*. Resmi Gazete. <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=18532&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R. & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006 444:7122, 444(7122), 1027–1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
- US Food and Drug Administration. (2010). *Overview of Food Ingredients, Additives & Colors*. <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors>
- Valeri, F. & Endres, K. (2021). How biological sex of the host shapes its gut microbiota. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 61, 100912. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2021.100912>
- Vijay, A. & Valdes, A. M. (2021). Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *European Journal of Clinical Nutrition* 2021 76:4, 76(4), 489–501. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00991-6>
- Vojdani, A. & Vojdani, C. (2015). Immune Reactivity to Food Coloring. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 21(1), 48–58.
- Vrieze, A., Out, C., Fuentes, S., Jonker, L., Reuling, I., Kootte, R. S., Van Nood, E., Holleman, F., Knaapen, M., Romijn, J. A., Soeters, M. R., Blaak, E. E., Dallinga-Thie, G. M., Reijnders, D., Ackermans, M. T., Serlie, M. J., Knop, F. K., Holst, J. J., Van Der Ley, C., Kema, I. P., Zoetendal, E.G., de Vos, W. M., Hoekstra, J. B. L., Stroes, E. S., Groen, A. K. & Nieuwdorp, M. (2014). Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *Journal of Hepatology*, 60(4), 824–831. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2013.11.034>
- Walker, A. W., Ince, J., Duncan, S. H., Webster, L. M., Holtrop, G., Ze, X., Brown, D., Stares, M. D., Scott, P., Bergerat, A., Louis, P., McIntosh, F., Johnstone, A. M., Lobley, G. E., Parkhill, J. & Flint, H. J. (2011). Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *The ISME Journal*, 5(2), 220. <https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2010.118>
- Walker, A. W., Sanderson, J. D., Churcher, C., Parkes, G. C., Hudspith, B. N., Rayment, N., Brostoff, J., Parkhill, J., Dougan, G. & Petrovska, L. (2011). High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. *BMC Microbiology*, 11, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-7>

- Wang, F., Zhao, T., Wang, W., Dai, Q. & Ma, X. (2022). Meta-analysis of the efficacy of probiotics to treat diarrhea. *Medicine*, 101(38), E30880. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000030880>
- Wang, J., Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., Liang, S., Zhang, W., Guan, Y., Shen, D., Peng, Y., Zhang, D., Jie, Z., Wu, W., Qin, Y., Xue, W., Li, J., Han, L., Lu, D., Wu, P., Dai, Y., Sun, X., Li, Z., Tang, A., Zhong, S., Li, X., Chen, W., Xu, R., Wang, M., Feng, Q., Gong, M., Yu, J., Zhang, Y., Zhang, M., Hansen, T., Sanchez, G., Raes, J., Falony, G., Okudo, S., Almeida, M., LeChatelier, E., Renault, P., Pons, N., Batto, J. M., Zhang, Z., Chen, H., Yang, R., Zheng, W., Li, S., Yang, H., Wang, J., Ehrlich, S. D., Nielsen, R., Pedersen, O., Kristiansen, K. & Wang, J. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490(7418), 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature11450>
- Wang, T., Chen, L., Huang, P., Yang, T., Zhang, S., Zhao, L., Chen, L., Ye, Z., Luo, L. & Qin, J. (2021). Association of maternal gut microbiota and plasma metabolism with congenital heart disease in offspring: a multi-omic analysis. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-021-84901-7>
- Wang, W., Chen, L., Zhou, R., Wang, X., Song, L., Huang, S., Wang, G. & Xia, B. (2014). Increased proportions of Bifidobacterium and the Lactobacillus group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(2), 398. <https://doi.org/10.1128/JCM.01500-13>
- Waters, J. L. & Ley, R. E. (2019). The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health. *BMC Biology* 2019 17:1, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12915-019-0699-4>
- Wells, P. M., Adebayo, A. S., Bowyer, R. C. E., Freidin, M. B., Finckh, A., Strowig, T., Lesker, T. R., Alpizar-Rodriguez, D., Gilbert, B., Kirkham, B., Cope, A. P., Steves, C. J. & Williams, F. M. K. (2020). Associations between gut microbiota and genetic risk for rheumatoid arthritis in the absence of disease: a cross-sectional study. *The Lancet. Rheumatology*, 2(7), e418–e427. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30064-3](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30064-3)
- Wexler, H. M. (2007). Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 593. <https://doi.org/10.1128/CMR.00008-07>
- World Health Organization. (2018). *Food additives*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-additives>
- World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Task Group on Updating the Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food, International Labour Organization, Agriculture Organization of the United Nations & United Nations Environment Programme. (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37578>
- Wu, L., Xu, Y., Lv, X., Chang, X., Ma, X., Tian, X., Shi, X., Li, X. & Kong, X. (2021). Impacts of an azo food dye tartrazine uptake on intestinal barrier, oxidative stress, inflammatory response and intestinal microbiome in crucian carp (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112551. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2021.112551>
- Xu, Z., Jiang, W., Huang, W., Lin, Y., Chan, F. K. L. & Ng, S. C. (2022). Gut microbiota in patients with obesity and metabolic disorders — a systematic review. *Genes & Nutrition* 2021 17:1, 17(1),

1–18. <https://doi.org/10.1186/S12263-021-00703-6>

- Yamashita, H., Maruta, Y. H., Jozuka, M., Kimura, R., Iwabuchi, H., Yamato, M., Saito, T., Fujisawa, K., Takahashi, Y., Kimoto, M., Hiemori, M. & Tsuji, H. (2009). Effects of acetate on lipid metabolism in muscles and adipose tissues of type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(3), 570–576. <https://doi.org/10.1271/BBB.80634>
- Yao, Y., Cai, X., Ye, Y., Wang, F., Chen, F. & Zheng, C. (2021). The role of microbiota in infant health: from early life to adulthood. *Frontiers in Immunology*, 12, 708472. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.708472/BIBTEX>
- Yoo, J. Y., Groer, M., Dutra, S. V. O., Sarkar, A. & McSkimming, D. I. (2020). Gut microbiota and immune system interactions. *Microorganisms*, 8(10), 1–22. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8101587>
- Zaibi, M. S., Stocker, C. J., O'Dowd, J., Davies, A., Bellahcene, M., Cawthorne, M. A., Brown, A. J. H., Smith, D. M. & Arch, J. R. S. (2010). Roles of GPR41 and GPR43 in leptin secretory responses of murine adipocytes to short chain fatty acids. *FEBS Letters*, 584(11), 2381–2386. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2010.04.027>
- Zhang, H., DiBaise, J. K., Zuccolo, A., Kudrna, D., Braidotti, M., Yu, Y., Parameswaran, P., Crowell, M. D., Wing, R., Rittmann, B. E. & Krajmalnik-Brown, R. (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(7), 2365. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0812600106>
- Zhou, Y., Xu, Z. Z., He, Y., Yang, Y., Liu, L., Lin, Q., Nie, Y., Li, M., Zhi, F., Liu, S., Amir, A., González, A., Tripathi, A., Chen, M., Wu, G. D., Knight, R., Zhou, H. & Chen, Y. (2018). Gut microbiota offers universal biomarkers across ethnicity in inflammatory bowel disease diagnosis and infliximab response prediction. *mSystems*, 3(1), 188–205. <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00188-17>
- Zhu, F., Ju, Y., Wang, W., Wang, Q., Guo, R., Ma, Q., Sun, Q., Fan, Y., Xie, Y., Yang, Z., Jie, Z., Zhao, B., Xiao, L., Yang, L., Zhang, T., Feng, J., Guo, L., He, X., Chen, Y., Chen, C., Gao, C., Xu, X., Yang, H., Wang, J., Dang, Y., Madsen, L., Brix, S., Kristiansen, K., Jia, H. & Ma, X. (2020). Metagenome-wide association of gut microbiome features for schizophrenia. *Nature Communications*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15457-9>
- Zhu, L., Baker, S. S., Gill, C., Liu, W., Alkhouri, R., Baker, R. D. & Gill, S. R. (2013). Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*, 57(2), 601–609. <https://doi.org/10.1002/hep.26093>
- Zhuang, Z. Q., Shen, L. L., Li, W. W., Fu, X., Zeng, F., Gui, L., Lü, Y., Cai, M., Zhu, C., Tan, Y. L., Zheng, P., Li, H. Y., Zhu, J., Zhou, H. D., Bu, X. Le & Wang, Y. J. (2018). Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 63(4), 1337–1346. <https://doi.org/10.3233/JAD-180176>

EKLER

Ek 1



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 13/04/2022
TOPLANTI NO : 2022-8
DOSYA NO : 2022-43
KARAR NO : 2022-8-80

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN'ın yaptığı; araştırmacı olarak Özlem ÇETİNER, Veli Cengiz ÖZALP, Ali Doğan DURSUN, Murat KAVRUK, Tuğçe NUR BALCI, Emre DUMAN ve Gökçen İPLİKÇİ'nin katıldığı "Sıçanlarda Erken Dönemde Tartrazine Maruziyetin Mikrobiyota Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 30/03/2022 tarihli toplantısında alınan 2022-7-66 sayılı kararı uyarınca düzeltilmiş şekli ile yeniden değerlendirilmiş ve söz konusu çalışmanın Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi" ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasının uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 32
Geçerlilik Süresi : 20/04/2022-20/04/2023

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	
Doç. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Adres:

Tel:

Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Doç. Dr. Neşe Nuray TOPRAK (Üye)	Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Attila İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

Ek 2



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 05/04/2023
TOPLANTI NO : 2023-7
DOSYA NO : 2022-43
KARAR NO : 2023-7-63

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN'ın yaptığı; araştırmacı olarak Özlem ÇETİNER, Veli Cengiz ÖZALP, Ali Doğan DURSUN, Murat KAVRUK, Tuğçe NUR BALCI, Emre DUMAN ve Gökçen İPLİKÇİ'nin katıldığı "Sıçanlarda Erken Dönemde Tartrazine Maruziyetin Mikrobiyota Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 13.04.2022 tarihli toplantısında alınan 2022-8-80 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Proje Yürütücüsü tarafından Kurulumuza verilen 24.03.2023 tarih ve 232336 sayılı dilekçede, projenin henüz tamamlanmaması gerekçesiyle Etik Kurul izninin bir yıl süreyle uzatılması talep edilmektedir.

Söz konusu dilekçe, Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarih ve 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 11 (5) maddesi kapsamında değerlendirilmiş ve çalışmanın Etik Kurul izin süresinin 1 yıl uzatılmasının uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Geçerlilik Süresi : 20/04/2022-20/04/2024

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	

Adres:

Tel:

Prof. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Doç. Dr. Neşe Nuray TOPRAK (Üye)	Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Attila İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	