



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ARALIKLI ORUÇ SIRASINDA PROBİYOTİK
BAKTERİ TAKVİYESİNİN BAĞIRSAK
MİKROBİYOTASINDAKİ TÜR ÇEŞİTLİLİĞİ
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

İrem YAMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Şubat-2024
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ARALIKLI ORUÇ SIRASINDA PROBİYOTİK
BAKTERİ TAKVİYESİNİN BAĞIRSAK
MİKROBİYOTASINDAKİ TÜR ÇEŞİTLİLİĞİ
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

İrem YAMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI

Şubat-2024
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

İrem YAMAN tarafından hazırlanan “Aralıklı Oruç Sırasında Probiyotik Bakteri Takviyesinin Bağırsak Mikrobiyotasındaki Tür Çeşitliliği Üzerindeki Etkisi” adlı tez çalışması .../.../2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ALLAHVERDİ
Muş Alparslan Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Danışman

Dr. Öğretim Üyesi Taha CEYLANI
Muş Alparslan Üniversitesi,
Teknik Bilimler MYO, Gıda İşleme Bölümü

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hikmet Taner TEKER
Ankara Medipol Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve
Genetik Bölümü

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selçuk SAĞIR
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi - Teknoloji Araştırma ve Proje Koordinasyon Birimi (TAPKOB) tarafından BAP-23-FBE-4902-01 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İrem YAMAN

Tarih:05.02.2024

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIKLI ORUÇ SIRASINDA PROBİYOTİK BAKTERİ TAKVİYESİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTASINDAKİ TÜR ÇEŞİTLİLİĞİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

İrem YAMAN

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI

Bu tez çalışması, aralıklı oruç (AO) uygulaması sırasında SCD Probiyotiklerinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Araştırma, 24 aylık erkek Sprague-Dawley sıçanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu sıçanlar, günde 18 saat yiyecekten mahrum bırakılarak aralıklı oruç rejimine tabi tutulmuş ve 30 gün boyunca her gün 3 mL (1×10^8 CFU) SCD Probiyotikleri ile takviye edilmiştir. Deneyin ardından, hem deney hem de kontrol gruplarından alınan çekum içeriklerinin metagenomik analizi yapılmıştır. Araştırma sonuçları, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve bileşiminde önemli değişiklikler olduğunu göstermiştir. Özellikle, Shannon ve Simpson alfa çeşitlilik indeksleri, yani bir topluluktaki tür çeşitliliğini ve bu türlerin bulunma oranlarını ölçen değerler, artış göstermiştir. Bu artış, SCD Probiyotiklerinin kullanımı, AO uygulaması ve AO sırasında SCD Probiyotiklerinin takviye edilmesiyle üç farklı durumda gözlemlenmiştir. Çalışmanın dikkat çekici bir yönü, Firmicutes ve Bacteroidetes (F/B) oranlarındaki değişimlerdir. Bu oranlar, genellikle bağırsak sağlığının bir göstergesi olarak kabul edilir ve bu değerin yüksek olması bazı sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilmektedir. Araştırma, F/B oranının hem AO uygulaması hem de SCD Probiyotikleri takviyesiyle iyileştiğini, ancak AO sırasında SCD Probiyotikleri takviye edildiğinde oranın daha dengeli olduğunu bulmuştur. Ayrıca, araştırma, tüm üç durumda da baskın bakteriyel ailelerin, cinslerin ve türlerin önemli ölçüde değiştiğini belirtmiştir. Ancak, SCD Probiyotiklerinin bu taksonomik seviyelerde en etkili olduğu, AO sırasında takviye ile aynı etkinin elde edilmediği gözlemlenmiştir. Bu durum, aralıklı orucun bağırsak mikrobiyotası üzerinde güçlü bir dengeleyici etkisi olduğunu göstermektedir ve AO sırasında SCD Probiyotikleri takviye etmenin bağırsak mikrobiyotası sağlığı için daha fazla fayda sağlayabileceğini işaret etmektedir. Sonuç olarak, bu çalışma, probiyotik takviyesinin diyet alışkanlıkları, özellikle aralıklı oruç ile nasıl etkileşime girdiğini ve bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu ve çeşitliliğini nasıl etkilediğini anlamamıza katkıda bulunmaktadır. Bu, bağırsak sağlığını iyileştirmeye yönelik diyet ve terapötik stratejilerin geliştirilmesi için potansiyel uygulamalar sunmaktadır.

2024, 70 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Aralıklı oruç, Metagenomiks, Mikrobiyota, Probiyotik, Sprague-Dawley Rat

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA SUPPLEMENTATION ON SPECIES DIVERSITY IN THE GUT MICROBIOTA DURING INTERMITTENT FASTING

İrem YAMAN

**Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Biology**

Advisor: Assist Prof. Taha CEYLANI

This study explored the effects of SCD Probiotics supplementation on gut microbiota in the context of intermittent fasting (IF) using 24-month-old male Sprague-Dawley rats. The experimental design involved subjecting these rats to an IF regime, which entailed 18 hours of daily food restriction, coupled with a daily dose of 3 mL (1×10^8 CFU) SCD Probiotics for a duration of 30 days. Post-experiment, metagenome analysis of the cecum contents from both the experimental and control groups was conducted. The findings revealed notable changes in gut microbiota diversity and composition. Specifically, both Shannon and Simpson alpha diversity indices, which are measures of species diversity in a community, showed an increase. This increase was observed under three conditions: with the use of SCD Probiotics alone, under IF, and with the combination of SCD Probiotics supplementation during IF. A significant aspect of the study was the observation of the Firmicutes and Bacteroidetes (F/B) ratios. These ratios are often used as indicators of gut health, with imbalances sometimes associated with various health issues. The study found that the F/B ratio improved under both IF and SCD Probiotics supplementation, but a more balanced ratio was achieved when SCD Probiotics were supplemented during IF. Additionally, the study noted substantial alterations in the dominant bacterial families, genera, and species across all three conditions. However, it was observed that while SCD Probiotics was most effective at altering these taxonomic levels, the combination of supplementation during IF did not yield the same effect. This suggests a potent stabilizing effect of intermittent fasting on gut microbiota, indicating that supplementing with SCD Probiotics during IF might offer enhanced benefits for gut microbiota health. In conclusion, this study contributes to the understanding of how probiotic supplementation interacts with dietary patterns like intermittent fasting, influencing gut microbiota composition and diversity. This has potential implications for dietary and therapeutic strategies aimed at improving gut health.

2024, 70 Pages

Keywords: Intermittent fasting, Metagenomics, Microbiota, Probiotic, Sprague-Dawley Rat

TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın hazırlanma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanını esirgemeyerek yardımcı olan değerli Hocam Sayın **Dr. Öğr. Üyesi Taha CEYLANI**'ye çok teşekkür ediyorum.

İrem YAMAN
MUŞ-2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1 Aralıklı Oruç	2
2.1.1 Aralıklı oruç türleri	3
2.1.2 Aralıklı orucun etkileri	4
2.1.2.1 Aralıklı orucun vücut ağırlığı üzerindeki etkisi	4
2.1.3 Metabolik hastalık risk faktörleri	4
2.1.3.1 Aralıklı orucun kan basıncı üzerindeki etkileri	4
2.1.3.2 Aralıklı orucun lipitlerin plazma düzeylerine etkileri	5
2.1.3.3 Aralıklı oruç tutmanın inflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki etkileri	6
2.1.4 Güvenlik içerikleri	6
2.1.5 Pratik hususlar	7
2.1.5.1 Endikasyonlar ve kontrendikasyonlar	7
2.1.5.2 Aralıklı oruç başlatırken, takip ederken ve durdururken tavsiyeler	8
2.1.6 Diabetes mellitus için dikkate alınacaklar	8
2.1.6.1 Kan şekeri izleme	9
2.1.6.2 T1DM'li hastalarda ilaç yönetimi	9
2.1.6.3 T2DM'li hastalarda ilaç yönetimi	10
2.1.7 Gelecek yönelimler	10
2.2 Bağırsak Mikrobiyotası	11
2.2.1 Yaşa bağlı değişen mikrobiyota yapısı	12
2.2.2 Mikrobiyotanın fonksiyonları	14
2.2.2.1 Metabolik	14
2.2.2.1.1 Diyet lifleri	14
2.2.2.1.2 Protein ve amino asitler	15
2.2.2.1.3 Lipitler	16
2.2.2.1.4 Safra asidi	16
2.2.2.1.5 Kolin	17
2.2.2.1.6 Polifenol	17
2.2.2.2 Koruyucu rolü	18
2.2.2.2.1 Mukus tabakası	18
2.2.2.2.2 Antimikrobiyal peptidler (AMP'ler)	19
2.2.2.2.3 IgA	20
2.2.2.2.4 Doğal ve adaptif bağışıklık	20
2.2.2.2.5 Mikrobiyota tarafından üretilen ve bağışıklıkta rol alan metabolitler	21

2.2.2.2.6 Kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar).....	22
2.2.2.2.7 Aril hidrokarbon reseptörü (AHR).....	22
2.2.2.2.8 Poliaminler	22
2.2.2.3 Yapısal rolü	23
2.2.2.4 Nörolojik	24
2.3 Probiotikler.....	25
2.3.1 Hücrel ve humoral bağışıklık fonksiyonlarının düzenlenmesi	26
2.3.2 Organik asitlerin üretimi	26
2.3.3 Bağırsak mikrobiyotası ile etkileşim.....	26
2.3.4 Probiyotik-konak etkileşimleri.....	27
2.3.5 Bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesi.....	27
2.3.6 Lokal ve lokal olmayan etkilere sahip küçük moleküllerin üretimi.....	27
2.3.7 Enzim üretimi.....	28
2.4 Prebiyotikler.....	28
2.4.1 Patojenlere karşı savunma.....	29
2.4.2 Bağışıklık modülasyonu.....	29
2.4.3 Mineral emiliminin artması.....	29
2.4.4 Bağırsak fonksiyonlarının iyileştirilmesi	30
2.4.5 Metabolik etkileri	30
2.4.6 Gelecek yaklaşımlar	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM	33
3.1 Hayvan Çalışmaları.....	33
3.2 DNA İzolasyonu.....	33
3.3 16S rRNA V3-V4 Bölgesinin Amplifikasyonu	33
3.4 Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme.....	34
3.5 16S V3-V4 Bölgelerinin PCR Koşulları.....	34
3.6 Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme.....	34
3.7 Ham Veriye (FastQ) Yönelik Biyoinformatik Analiz.....	34
3.8 Shannon ve Simpson Çeşitlilik İndeksleri	35
3.9 İstatistiksel Analiz.....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	36
4.1 Hayvanların Vücut Ağırlığı, Su ve Yem Tüketimi	36
4.2 Alfa Çeşitlilik ve F/B Oranı	38
4.3 En Baskın Bakteriyel Aileler, Cinsler ve Türler	40
4.4 Tüm Gruplarda En Baskın Bakteriyel Türler Yeniden Şekillendi.....	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
5.1 Sonuç.....	49
5.2 Öneriler	49
5.2.1 Diyet ve probiyotik takviyesi entegrasyonu.....	49
5.2.2 Uzun süreli etkilerin araştırılması	49
5.2.3 Farklı yaş grupları ve cinsiyetler üzerinde araştırmalar	50
5.2.4 Mikrobiyota çeşitliliği ve sağlık üzerindeki etkileri	50
5.2.5 Moleküler mekanizmaların anlaşılması	50
KAYNAKLAR	51



KISALTMALAR

AO	:	Aralıklı oruç
ADF	:	B hücrelerinin farklılaşması, antikor yapımı
CNS	:	Central nervous system (Merkezi Sinir Sistemi)
DC	:	Dentritik hücre
F/B	:	Firmicutes ve Bacteroidetes oranı
Fst	:	Aralıklı oruç tutma
GBA	:	Bağırsak beyin eksenini
GI	:	Gastrointestinal sistem
HDL	:	Yüksek yoğunluklu protein
HFD	:	Yüksek yağlı diyet
IBD	:	İnflamatuar bağırsak hastalığı
IFN	:	İnterferon
IL-6	:	İnterlökin-6
LDL	:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Prb	:	Probiotics takviyesi
SCFA	:	Kısa zincirli yağ asitleri
TMA	:	Trimetilamin
TMAO	:	Trimetilamin-N-oksit
TNF	:	Tümör nekroz faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 4.1.** Aralıklı oruç, SCD probiyotik takviyesi ve kombine uygulamanın (Vücut ağırlığı b) Gıda tüketimi c) Su tüketimi üzerindeki etkileri. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup). 37
- Şekil 4.2.** Aralıklı oruç, SCD Probiotics takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiotics takviyesinin yaşlı sıçanların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri a) Shannon (H) ve b) Simpson (1-D) indeksleri ve c) Firmicutes ile Bacteroidetes oranı (F/B oranı).Cnt. (kontrol), Fst(aralıklı oruç),Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup). 39
- Şekil 4.3.** Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri aileleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 10 bakteri ailesinin bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt. (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup). 41
- Şekil 4.4.** Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri cinsleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 10 bakteri cinsinin bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup). 43
- Şekil 4.5.** Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri türleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 20 bakteri türünün bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup). 45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. En baskın ilk 10 bakteri ailesi ve cinsi	42
Çizelge 4.2. En baskın ilk 20 bakteri türü.	46



1. GİRİŞ

Mikrobiyom üzerine yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyotası ile yaşlanma arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Nagpal ve ark., 2018; Aleman ve Valenzano, 2019; Bana ve Cabreiro, 2019; Xu ve ark., 2019). Mikrobiyom doğumdan önce oluşmaya başlar (Jiménez-Pearson, 2005; Aagaard ve ark., 2014; Collado ve ark., 2016)ve doğum şekline, gıdaya, antibiyotik kullanımına, genetiğe bağlı olarak doğumdan sonra gelişmeye devam eder (Bäckhed ve ark., 2015b; Bokulich ve ark., 2016; Odamaki ve ark., 2016). Yaklaşık 10^{13} ila 10^{14} mikroorganizmadan oluşan yetişkin insan bağırsak mikrobiyomu, gıda bozulması, lipid depolama ve metabolizması, vitamin sentezi, zararlı mikrobiyal turlerin baskılanması ve bağırsak bariyer bütünlüğünün korunması dahil olmak üzere konakçı için birkaç temel işlevi yerine getirir (Savage, 1977; Bianconi ve ark., 2013; Lakshminarayanan ve ark., 2014; Kumarappah ve Senderovich, 2016; Sender ve ark., 2016). Ancak klinik araştırmalara göre genç ve yaşlı hastaların bağırsak mikrobiyotalarında önemli farklılıklar vardır. Bakteri çeşitliliğinin yaşla birlikte azaldığı görülmektedir (Claesson ve ark., 2011; Xu ve ark., 2019). Disbiyoz olarak bilinen bu durum, bağırsak bariyeri bütünlüğündeki bozulmalar ve obezite, insülin direnci, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra multipli skleroz, depresyon ve anksiyete gibi rahatsızlıklarla ilişkilendirilmektedir (Burcelin ve ark., 2011; Bercik ve ark., 2012; Luna ve Foster, 2015; Zapata ve Quagliarello, 2015).

Probiyotik bakteriler, bağırsak mikrobiyotası bakterileri ile doğrudan temasa geğebildiğinden, bu, bağırsak mikrobiyotasının dengeli ve işlevsel olmasını garanti eder. Bu nedenle probiyotik bakteriler, yaşlanma ile ilişkili disbiyozu düzeltmede çok önemli bir rol oynayabilir (Plaza-Díaz ve ark., 2015). Biyolojiden klinik uygulamaya, bağırsak sağlığı ve hastalıklarında probiyotikler ve prebiyotikler, faydalı bağırsak mikrobiyotasının sayısını ve çeşitliliğini modüle etmek de dahil olmak üzere (Ferrario ve ark., 2014; Irwin ve ark., 2018), kan kolesterol seviyelerini ve kan lipid profillerini arttırmak (Guo ve ark., 2011; Sun ve Buys, 2015), mikotoksinleri (aflatoksinler gibi) ortadan kaldırmak (Nikbakht Nasrabadi ve ark., 2013), kan basıncını ve hipertansiyonu düşürmek (Khalesi ve ark., 2014) ve kan şekeri toleransını ve diyabet kontrolünü arttırmak gibi çeşitli sağlık yararlarıyla ilişkilendirilmiştir (Kumar ve ark., 2015; Foster ve ark., 2016). Halkın bu sağlık avantajlarının farkına varmasından bu yana, son on yılda probiyotik ürünlere ve takviyelere olan talepte giderek artmaktadır. Bu, piyasadaki yeni

probiyotik içeren gıdaların ve takviyelerin sayısında hızlı bir artışa neden olduğu görülmektedir (Kumar ve ark., 2015).

Çok sayıda çalışma, aralıklı orucun sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğunu da göstermiştir. Oruç olarak bilinen diyetle ilgili yaygın bir uygulama, gıda tüketiminin kısmen veya tamamen kısıtlanması olarak tanımlanmaktadır (Ali ve ark., 2021). Birkaç oruç yaklaşımı vardır (Meehan ve Beiko, 2014). Gıda tüketiminin 16 ila 24 saat süreyle düzenli olarak kısıtlanması, aralıklı oruç olarak bilinir. Terapötik, sosyal veya dini nedenlerle sıklıkla kullanılır (de Cabo ve Mattson, 2019). Hayvan çalışmalarında, aralıklı orucun insülin direncini azaltabileceği, yağ dokusu esmerleşmesini uyarabileceği, merkezi sinir sistemi otoimmünesini önleyebileceği ve mikrobiyal metabolitlerin kompozisyonlarını değiştirerek diyabetle ilişkili retinopatiyi iyileştirebileceği öne sürülmüştür (Cignarella ve ark., 2018; Li ve ark., 2021). Ek olarak, alternatif gün orucu veya aralıklı oruç tutmanın, yaşlanma ve Alzheimer hastalığı ile ilgili nöroinflamasyonu, beyin yapısını ve bilişsel işlevi geliştirdiği hayvan modellerinde kanıtlanmıştır (Shafquat ve ark., 2014; Singh ve ark., 2015; Silva ve ark., 2020; Zagato ve ark., 2020). Yakın zamanda tamamladığımız bir çalışmada, aralıklı oruç uygulamasının bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun dengelenmesinde önemli bir rol oynadığı görülmüştür (Ceylani ve Teker, 2022; Teker ve Ceylani, 2023). Bu çalışmada, aralıklı oruç sırasında takviye edilen probiyotik bakteri kullanımının yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasında tür çeşitliliği üzerindeki etkileri araştırılacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Aralıklı Oruç

Araştırmalara göre, aralıklı oruç (AO) diyetleri son yıllarda popülaritesi artan ve

birçok kişide klinik olarak önemli kilo kaybı sağlayabilen ve geleneksel diyetlere kıyasla daha az karmaşık olarak düşünülen diyet yöntemleridir (Vaughan ve ark., 2018; Velingkaar ve ark., 2020). Aralıklı oruç, genellikle en az 12 saatlik bir süre boyunca oruç tutmayı ve ardından serbest yemeye izin veren bir dönemi içerir. Aralıklı orucun aniden popülerleşmesinin nedenlerinden biri basitliğidir. Daha önceki popüler diyetler, genellikle bireylerin enerji alımını dikkatlice izlemelerini veya karbonhidratları titizlikle saymalarını gerektiriyordu. Aralıklı oruç, birçok kişi için günlük kalori takibini gerektirmemesi ve belirli yiyecek gruplarını yasaklamaması nedeniyle ferahlatıcı bir alternatif olabilir. Dahası, bazı aralıklı oruç rejimleri, bireylerin günün belirli dönemlerinde serbestçe yemelerine izin verir, bu da bu diyetin başka bir cazip özelliğidir. Basitçe söylemek gerekirse, tarih ve saati doğru bir şekilde belirleyebildikleri sürece, çoğu insan aralıklı oruç yapabilir. Aralıklı oruç popülerliği artsa da, şu anda bu diyetlerin insanlardaki faydaları ve risklerini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır.

2.1.1 Aralıklı oruç türleri

Aralıklı oruç, genel anlamda belirli sürelerde yemek yemeyi ve diğer zamanlarda oruç tutmayı içerir. Ancak, çeşitli aralıklı oruç türleri vardır ve her biri farklı oruç ve yeme pencereleri belirler.

16/8 Metodu (Leangains Protokolü): Bu yöntemde, her gün 16 saat oruç tutulur ve 8 saatlik bir pencerede beslenme yapılır. Bu, genellikle gece uyurken ve sabah erken saatlerde oruç tutmayı içerir. Sonra, öğleden sonra ve akşam yemeği için 8 saatlik bir yemek yeme penceresi vardır. Bu model genellikle erkekler için önerilirken, kadınlar için biraz daha kısa bir oruç süresi (14/10) önerilir.

5.2 Metodu: Bu yöntem, haftanın beş günü normal beslenme ve iki gün sadece 500-600 kalori almayı içerir. Bu iki 'açlık günü' genellikle haftada iki non-consecutive (ardışık olmayan) gün olarak seçilir.

Eat-Stop-Eat (Yemek-Oruç-Yemek): Bu yöntem, haftada bir veya iki kez 24 saatlik oruç tutmayı içerir. Örneğin, bir kişi pazartesi akşamı yemek yedikten sonra, salı akşamına kadar hiçbir şey yemeyebilir.

Alternatif Gün Orucu: Bu yöntem, bir gün normal beslenme ve sonraki gün hiç yememeyi veya çok az (500 kalori kadar) yemeyi içerir.

Warrior Diyeti (Savaşçı Diyeti): Bu yöntem, günde 20 saat boyunca çok az yemeyi ve dört saatlik bir pencerede büyük bir öğün yemeyi içerir.

Her aralıklı oruç yönteminin kendi avantajları ve zorlukları vardır, bu yüzden hangi yöntemin bir kişi için en uygun olduğunu belirlemek, kişinin yaşam tarzına, sağlık durumuna ve hedeflerine bağlıdır (Edelstein ve ark., 1992; Mekary ve ark., 2013; Velingkaar ve ark., 2020).

2.1.2 Aralıklı orucun etkileri

2.1.2.1 Aralıklı orucun vücut ağırlığı üzerindeki etkisi

Aralıklı oruç, birçok çalışmada vücut ağırlığını düşürme etkisi olduğunu göstermiştir. Bu beslenme modeli, genellikle kalori alımının azalmasına ve metabolizmanın belirli şekillerde değişmesine yardımcı olabilir (Mattson ve ark., 2018).

Kalori Alımının Azaltılması: Aralıklı oruç, genellikle bireylerin daha az öğün tüketmelerine neden olur, bu da genellikle daha az kalori alımına yol açar. Kısıtlı yeme pencereleri, aşırı yemeyi ve atıştırmayı kontrol etmeye yardımcı olabilir (Klempel ve ark., 2013).

İnsülin Hassasiyetinin Artırılması: Aralıklı oruç, genellikle insülin hassasiyetini artırır. Bu, vücudun kan şekerini daha etkili bir şekilde yönetmesine ve daha fazla yağ yakmasına yardımcı olabilir (Moro ve ark., 2016).

Hormonal Değişiklikler: Aralıklı oruç sırasında, vücuttaki bazı hormonal değişiklikler yağ yakmayı teşvik eder. Bu hormonlar arasında büyüme hormonu ve norepinefrin bulunur (Chausse ve ark., 2015; Hoddy ve ark., 2020).

Bununla birlikte, aralıklı orucun kilo kaybı üzerindeki etkisi kişiden kişiye değişir ve diğer yaşam tarzı faktörleriyle birlikte değerlendirilmelidir. Aralıklı oruç, düzenli fiziksel aktivite ve genel sağlıklı bir diyetle birleştirildiğinde genellikle daha etkilidir. Bazı çalışmalar, aralıklı orucun kilo kaybı için etkili bir strateji olduğunu gösterirken, diğerleri bu etkinin sınırlı olduğunu ve bazı durumlarda diğer diyet stratejileri kadar etkili olmadığını belirtmiştir. Aralıklı oruç, tüm bireyler için uygun olmayabilir ve her zaman bir sağlık profesyoneli ile tartışılmalıdır.

2.1.3 Metabolik hastalık risk faktörleri

2.1.3.1 Aralıklı orucun kan basıncı üzerindeki etkileri

Aralıklı oruç türleri; Alternatif Gün Orucu, 5.2 Diyeti ve Zaman Kısıtlamalı Beslenme (16/8 Metod) modellerinin kan basıncı üzerindeki etkisi değişken olabilir. Bazı

bilimsel çalışmalarda, bu aralıklı oruç türlerinin kan basıncını belirli oranlarda azalttığı görülmüştür. Örneğin, bazı durumlarda, kişilerin sistolik (yüksek değer) kan basınçları %3-11, diyastolik (düşük değer) kan basınçları ise %3-13 azalmıştır. Ancak, bu sonuçları herkes elde etmemiştir; bazı kişilerde kan basıncında hiçbir değişiklik olmamıştır (Catenacci ve ark., 2016; Alhamdan ve ark., 2016). Buna ek olarak, kan basıncında azalma gözlenen kişilerin çoğunun başlangıçta yüksek kan basıncına sahip olduğu belirtilmiştir (Green ve ark., 2022). Bu da demektir ki, eğer bir kişinin kan basıncı başlangıçta yüksekse (hipertansiyon veya sınırda hipertansiyon durumu varsa), aralıklı oruç onların kan basıncını düşürmeye yardımcı olabilir (Catenacci ve ark., 2016). Ayrıca, kişinin kilo kaybedip kaybetmediği, kan basıncındaki değişikliği belirlemez. Örneğin, Zaman Kısıtlı Beslenme yöntemini uygulayan ve tüm yiyeceklerini saat 15.00'ten önce tüketen kişilerde, kilo kaybı olmasa bile kan basıncında bir azalma gözlenmiştir (Catenacci ve ark., 2016). Bu bulgular, kan basıncındaki bu azalmanın sadece kilo kaybindan kaynaklanmadığını, oruç süresince uzun süreli yemek tüketmeme durumunun da etkili olabileceğini göstermektedir. Ancak, kilo kaybı olmadan orucun kan basıncını nasıl düşürdüğü tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, sinir sistemi aktivitesindeki hafif bir artış ve bazı hormon düzeylerindeki değişikliklerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Rynders ve ark., 2019). Zaman Kısıtlı Beslenme'deki erken yeme zamanı, vücudun tuz atılımını kontrol eden sistemlerin daha etkin çalışmasına yardımcı olabilir. Bu, tuzun vücuttan daha hızlı atılmasını sağlar ve bu da kan basıncını düşürebilir (St-Onge ve ark., 2017).

2.1.3.2 Aralıklı orucun lipitlerin plazma düzeylerine etkileri

Lipitler, vücutta enerji sağlamada önemli bir rol oynar ve kardiyovasküler sağlık açısından önemlidir. Lipit düzeylerini etkileyen faktörler arasında diyet, yaşam tarzı ve genetik faktörler bulunur. Aralıklı oruç uygulayan bireylerde genellikle total kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerinde azalma, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerinde ise artış gözlenir. LDL, "kötü kolesterol" olarak adlandırılır çünkü damar duvarlarında birikerek arterlerin sertleşmesine ve daralmasına neden olabilir. HDL ise "iyi kolesterol" olarak adlandırılır çünkü kan dolaşımında bulunan LDL'yi karaciğere taşır, böylece LDL'nin damarlarda birikmesini önler (Chapnik ve ark., 2017; Grajower ve Horne, 2019; Hoddy ve ark., 2020). Birkaç çalışma, aralıklı oruç uygulamasının trigliserid seviyelerini düşürebileceğini göstermiştir. Trigliseridler, vücutta depolanan bir tür yağdır ve yüksek seviyeleri kalp hastalığı riskini artırabilir

(Harvie ve ark., 2013). Bununla birlikte, bu sonuçlar aralıklı oruç yöntemine, süresine, bireyin genel diyetine ve yaşam tarzına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bazı kişilerde, aralıklı oruç lipid düzeylerini önemli ölçüde etkileyebilirken, diğerlerinde herhangi bir etkisi olmayabilir. Her ne kadar aralıklı oruç lipid profiline olumlu etkiler sağlayabilirse de, bu değişiklikler genellikle diğer sağlıklı yaşam tarzı uygulamalarıyla birleştirildiğinde en etkilidir. Özellikle dengeli ve sağlıklı bir diyet, düzenli egzersiz ve sigara içmeme, lipid seviyelerini kontrol etmek ve genel kalp sağlığını desteklemek için hayati önem taşır.

2.1.3.3 Aralıklı oruç tutmanın inflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki etkileri

İnflamasyon (vücuttaki iltihaplanma süreci) ve oksidatif stres (vücudun hücrelerine zarar veren aşırı miktarda serbest radikal), kalp hastalığı ve tip 2 diyabetin oluşumu ve ilerlemesinde önemli rol oynar (Harris ve ark., 2018). İnsanlarda inflamasyonun belirleyicileri olarak TNF, IL-6, homosistein ve C-reaktif protein adlı maddeler incelenmiştir. Yapılan araştırmalar, aralıklı orucun (Alternatif Gün Orucu, 5:2 Diyeti ve Zaman Kısıtlamalı Beslenme) bu inflamatuvar belirteçler üzerinde genellikle etkisinin olmadığını göstermiştir. Ancak, aralıklı oruç, oksidatif stres belirteçlerini azaltmada etkili olmuştur. Yani, oruç tutmak, vücutta serbest radikallerin (hücrelere zarar veren moleküller) seviyelerini düşürmüştür. Araştırmalar, aralıklı oruç uygulayan kişilerin, oksidatif stres belirteçlerinin belirgin bir şekilde azaldığını göstermiştir (Kenyon, 2001; Barnosky ve ark., 2014; Catenacci ve ark., 2016; Hoddy ve ark., 2020). Bu oksidatif stres belirteçlerindeki azalmaların, orucun insülin duyarlılığını (vücudun insüline olan tepkisini) artırmaya yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Bu önemlidir çünkü oksidatif stres, insülinin vücut hücreleri tarafından algılanmasını zorlaştırabilir ve bu da insülin direncine (vücudun insülinin etkilerine karşı direnci) yol açabilir (Heilbronn ve Ravussin, 2005; Clayton ve ark., 2016). Ayrıca, aşırı kilolu bireylerde antioksidanlar (serbest radikalleri etkisiz hale getiren maddeler) verildiğinde, insülin duyarlılıklarının arttığı bulunmuştur. Bu da, aralıklı orucun insülin duyarlılığını artırma mekanizmalarından birinin, oksidatif stresi azaltarak gerçekleşebileceğini düşündürmektedir (Liu ve ark., 2017b; Liu ve ark., 2020a).

2.1.4 Güvenlik içerikleri

Aralıklı oruç uygulaması genellikle mide bulantısı, ağız kuruluğu, sinirlilik, yorgunluk gibi olumsuz yan etkilere yol açmaz. Baş ağrıları nadiren de olsa görülebilir,

ama genellikle bu durum yeterli su tüketimiyle çözülür (Kenyon, 2001; Isomaa ve ark., 2001; Lakka ve ark., 2002; Meng ve ark., 2020). Aralıklı oruçla ilgili bir diğer endişe ise yeme bozuklukları riskinin artabileceği yönündedir. Ancak yapılan çalışmalar, orucun aşırı yeme veya kilo alma korkusu gibi problemleri artırmadığını göstermiştir. Ancak, yeme bozukluğu geçmişi olan kişiler genellikle bu çalışmalardan hariç tutulur, bu yüzden bu kişiler için orucun ne kadar güvenli olduğu tam olarak bilinmemektedir (Isomaa ve ark., 2001; Lakka ve ark., 2002). Ayrıca, aralıklı orucun üreme hormonları üzerinde belirgin bir etkisi yok gibi görünüyor. Kadınlarda ve erkeklerde yapılan araştırmalar, oruç sonrasında çeşitli üreme hormonlarının seviyelerinde önemli değişiklikler olmadığını göstermiştir (Klop ve ark., 2013; Chausse ve ark., 2015; Hoddy ve ark., 2020). Orucun metabolizma hızını düşürme potansiyeli konusunda endişeler var, ancak kanıtlar genellikle orucun metabolizma hızını önemli ölçüde etkilemediğini veya hafif bir azalmaya yol açabileceğini gösterir (Jebeile ve ark., 2019; Green ve ark., 2022). Sonuç olarak, mevcut bulgular aralıklı orucun genellikle mide, sinir sistemi, hormonlar veya metabolizma üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını gösteriyor. Ancak, bu diyetlerin güvenliği konusunda kesin sonuçlara varmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

2.1.5 Pratik hususlar

2.1.5.1 Endikasyonlar ve kontrendikasyonlar

Aralıklı oruç, belirli gruplar için önerilmemekte veya belirli koşullar altında önerilmektedir:

- 1- 12 yaşın altındaki çocuklar, hamileler ve emziren kadınlar: Bu gruplarda aralıklı orucun güvenliği konusunda yeterli araştırma yapılmamıştır, bu nedenle bu diyet önerilmez.
- 2- Yeme bozukluğu geçmişi olanlar veya BMI değeri 18,5 kg/m²'den düşük olanlar: Bu kişiler için aralıklı oruç önerilmez.
- 3- 70 yaş üstü bireyler: Yaşlanmayla beraber kas kaybı (sarkopeni) riski arttığı için bu kişiler, aralıklı orucu dikkatli bir şekilde değerlendirmelidir.
- 4- Belirli saatlerde ilaç alan hastalar: Belirli TRE rejimlerini takip etmeleri zor olabilir. Bu durumda, ilaçların alım saatleri ile uyumlu bir oruç programı oluşturmak için doktorlarıyla işbirliği yapmalıdırlar.

- 5- Sağlıklı, fazla kilolu veya obez yetişkinler ve T1DM, T2DM veya diğer eşlik eden hastalıkları olmayan kişiler genellikle aralıklı orucu tıbbi gözetim olmaksızın güvenle uygulayabilirler (Kawano ve Arora, 2009).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, aralıklı orucun obez ergenlerde kilo kontrolünde etkili olabileceğini göstermiştir. Ancak, bu diyet bu gruba yalnızca kilo kaybı klinik olarak gerekli olduğunda ve tıbbi gözetim altında uygulanmalıdır. Obez ergenlerde aralıklı orucun güvenliği konusunda görüşler farklılık gösterebilir ve bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Hotamisligil ve ark., 1995; Song ve Kim, 2022).

2.1.5.2 Aralıklı oruç başlatırken, takip ederken ve durdururken tavsiyeler

Aralıklı oruç, günlük yaşamın içerisine genellikle kolaylıkla dâhil edilebilir. Ancak, bu diyetlere alışmak için genellikle 1-2 haftalık bir süre gerekmektedir. Bu dönemde baş ağrısı gibi rahatsızlıklar yaşanabilir ancak su tüketimi artırıldığında bu durum genellikle düzelir (Xu ve ark., 2003a; Bhutani ve ark., 2013). Oruç dönemlerinde bile egzersiz rutinlerine devam edilebilir. Hatta 12-36 saatlik yemek yememe periyotlarında orta-yüksek yoğunlukta egzersiz yapmak genellikle olumsuz bir etkiye sebep olmaz (Chausse ve ark., 2015; Mattson ve ark., 2017). Aralıklı oruç sırasında tüketilen yiyeceklerde de dikkatli olunmalıdır. Bol miktarda meyve, sebze ve tam tahıl tüketimi lif ve mikro besin alımını artırmak için önemlidir. ADF ve 5.2 diyetinin oruç günlerinde en az 50g yağsız protein tüketmek, açlık kontrolüne yardımcı olabilir ve aşırı yağsız kütle kaybını önler (Bruun ve ark., 2006; Divoux ve ark., 2010). Alkol ve kafeinli içecekler serbesttir ancak özellikle oruç günlerinde sınırlı olmalıdır. Diyet sodaların tüketimi de oruç penceresi boyunca izinlidir ancak bu içecekler şeker isteğini artırabileceği için sınırlı olmalıdır (Zamarron ve ark., 2017). Aralıklı oruç uygulaması yanında davranış değişikliği stratejilerinin kullanılması da kilo yönetimine yardımcı olabilir. Bu stratejiler, hastaların yiyecek alımını, aktivite düzeylerini ve vücut ağırlıklarını düzenli olarak izlemeyi öğrenmesine yardımcı olabilir. Davranış terapisi, birebir veya grup ortamında sağlanabileceği gibi çevrimiçi programlar ve mobil sağlık uygulamaları aracılığıyla da uygulanabilir (Xu ve ark., 2003b; Celli ve ark., 2009).

2.1.6 Diabetes mellitus için dikkate alınacaklar

Aralıklı oruç, Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastaları için de potansiyel bir yöntem olabilir. Ancak, mevcut araştırmaların sınırlı olması nedeniyle, bu uygulamayı

benimsemek isteyen diyabet hastalarının doktorları tarafından yakından takip edilmeleri gerekmektedir. Diyabetli bireylerde aralıklı oruç yapmanın güvenliği, özellikle uygun tıbbi yönetim ve düzenli kan şekeri izlemi ile birlikte olduğunda, hipoglisemi (düşük kan şekeri) ve hiper glikemi (yüksek kan şekeri) riskini önleyebilir. Ancak, her hastanın durumu farklı olduğu için, bu diyet uygulamasının herkes için uygun olmadığını unutmamak önemlidir. Doktor tavsiyesi ve yakın tıbbi izlem olmadan aralıklı oruç uygulamasına başlamamalıdır (Grajower ve Horne, 2019; Zhang ve ark., 2022).

2.1.6.1 Kan şekeri izleme

Tip 1 ve Tip 2 Diyabet Mellitus (T1DM veya T2DM) hastalarının aralıklı oruç uygulamaları sırasında, düzenli olarak açlık kan şekeri seviyelerini ölçmeleri ve kaydetmeleri önerilir. Ölçümler genellikle her öğünden hemen önce, her öğünden yaklaşık 2 saat sonra ve yatmadan önce yapılmalıdır. Aktif kilo kaybı dönemi boyunca (genellikle diyetin ilk 3 ayı) hastaların olumsuz etkileri izlemek ve ilaçları ayarlamak için haftalık olarak doktorlarıyla iletişim halinde olmaları önemlidir. Eğer kan şekeri seviyeleri iki ardışık ölçümde 70 mg/dL'nin altındaysa, hastaların ilaç değişiklikleri için doktorlarıyla iletişime geçmeleri gerekmektedir. Düşük kan şekeri (hipoglisemi) belirtileri yaşanabilir ve bu durum ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Öte yandan, kan şekeri seviyeleri 180 mg/dL'nin üzerindeyse, hastaların oruç protokolüne uyup uymadıklarını kontrol etmeleri ve gerektiğinde ilaç değişiklikleri yapmaları önerilir. Yüksek kan şekeri (hiperglisemi) belirtileri yaşanabilir ve bu durum da ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Bu nedenle, T1DM veya T2DM hastalarının aralıklı oruç sırasında düzenli olarak kan şekeri seviyelerini izlemeleri ve tıbbi destek olarak ilaç dozlarını ayarlamaları önemlidir (Navarro-Garcia ve ark., 2010; Grajower ve Horne, 2019).

2.1.6.2 T1DM'li hastalarda ilaç yönetimi

Mevcut literatüre göre, Tip 1 Diyabet Mellitus (T1DM) hastaları, Aralıklı Oruç Diyeti (ADF) veya 5.2 diyetindeyken, oruç tutulan günlerde bazal insülin dozlarını %50 ve oruç tutulmayan günlerde %10 oranında azaltmaları önerilebilir. İnsülin dozları, aktif kilo kaybı döneminde, önceki 7 gün boyunca ölçülen en düşük yemek öncesi kan şekeri düzeyine dayanarak haftalık olarak ayarlanmalıdır. Tip 1 diyabet hastalarında yapılan bir çalışma olmadığı için, zaman sınırlı beslenme (TRE) sırasında ilaç yönetim protokolü hala bilinmiyor (Pütsep ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2022).

2.1.6.3 T2DM'li hastalarda ilaç yönetimi

Tip 2 Diyabet Mellitus (T2DM) hastalarında aralıklı oruç uygulamasına başlamadan önce, HbA1c seviyesi, yani kan glukoz seviyelerinin ortalama değerini gösteren ölçüm, dikkate alınmalıdır. Eğer HbA1c seviyesi %5.7 veya altında ise, hastaların metformin kullanmaya devam etmeleri ve Alternatif Day Fast (ADF) veya 5:2 diyetine başlamaları önerilir. Eğer HbA1c seviyesi %7 ile %10 arasında ise, sülfonilüreler ve insülin sadece oruç günlerinde kesilebilir. Uzun etkili insülin, oruçtan bir gece önce kesilebilir. Eğer HbA1c seviyesi %10'dan yüksek ise, sülfonilüre ilaçları değiştirilmeyebilir fakat uzun etkili insülin sadece oruç günlerinde yaklaşık 10 birim azaltılabilir. Her hasta için uygun tedavi planının belirlenmesi, hastanın endokrinologu ile birebir işbirliği gerektirir. Hastaların tıbbi tavsiye olmadan kendi ilaçlarını ayarlamamaları önemlidir (Pütsep ve ark., 2000; Navarro-Garcia ve ark., 2010; Grajower ve Horne, 2019). T2DM hastalarında zaman kısıtlı beslenme (TRE) sırasında ilaç protokolü henüz netleşmemiştir, çünkü bu konuda yeterli bilimsel veri mevcut değildir. Aynı şekilde, SGLT2 inhibitörleri ve GLP1 reseptör agonistleri gibi yeni ilaçların yönetimine dair net bir protokol henüz yoktur, çünkü bu ilaçların aralıklı oruç sırasındaki güvenilirliği ve etkililiği hakkında yayınlanmış veri bulunmamaktadır. Bu nedenle, T2DM hastalarının aralıklı oruç uygulamalarını doktorlarına danışarak ve tıbbi denetim altında yürütmeleri önemlidir (Navarro-Garcia ve ark., 2010; Grajower ve Horne, 2019).

2.1.7 Gelecek yönelimler

2010 yılına kadar, aralıklı oruç diyetlerinin sağlık üzerindeki etkilerini inceleyen sadece dört araştırma yapılmıştır (Wilson ve ark., 1999; Boneca ve ark., 2007; Barnosky ve ark., 2014; Fothergill ve ark., 2016). Ancak, son 10 yılda bu diyetlere ilgi artmış ve yeni veriler sürekli olarak ortaya çıkmıştır. Yine de, bu konuda daha fazla anlayış kazanmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Özellikle, aralıklı oruç diyetlerinin uzun vadeli etkilerini (>1 yıl) inceleyen klinik çalışmalar gereklidir. Şimdiye kadar, bu alanda yapılan araştırmalar genellikle kısa süreli olmuştur (4 ila 12 hafta), ve sadece üç çalışma 52 hafta boyunca etkileri incelemiştir (Jebeile ve ark., 2019; Grajower ve Horne, 2019; Zhang ve ark., 2022). Gelecekteki araştırmaların öncelikli olarak Tip 1 ve Tip 2 Diyabet Mellitus, polikistik over sendromu ve tiroid hastalarında aralıklı oruç diyetlerinin sağlık yararlarını test etmeye odaklanması önerilir. Ayrıca, ADF, 5.2 diyeti ve TRE'nin etkilerini doğrudan karşılaştıran çalışmalar, hangi rejimin diğerlerinden daha etkili

olduğunu belirlememize yardımcı olabilir. Son olarak, kilo kaybının metabolik parametreler üzerindeki etkilerini oruç tutmanın etkilerinden ayıran çalışmalar da gereklidir. Bu tür araştırmalar, oruç tutmanın metabolik iyileştirmelere nasıl katkıda bulunduğunu daha iyi anlamamızı sağlayabilir.

2.2 Bağırsak Mikrobiyotası

İnsan bağırsak mikrobiyotası, bakteriler, arkea, ökaryotlar, virüsler ve parazitler dâhil olmak üzere çeşitli mikroorganizmaları içerir. Bağırsak mikro çevresi, başlıca yedi filuma (Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia ve Cyanobacteria) ait bakterilerin büyümesini destekler. Bu yedi filum içinde, Bacteroidetes ve Firmicutes toplam popülasyonun %90'dan fazlasını oluşturur. Bacteroidetes filumunun çoğu türü Bacteroides ve Prevotella cinslerine aittir. Firmicutes filumunda Clostridium, Eubacterium ve Ruminococcus cinslerini içeren Clostridium bakteri türleri bağırsakta yaygındır. Ayrıca, Arkea'dan bir hidrojen tüketen metanojen olan *Methanobrevibacter smithii*, *Haloferax alexandrinus* ve *Haloferax massiliensis* türlerine ait halofilik (tuz seven) bakteriler de insan bağırsaklarından bildirilmiştir (Lagier ve ark., 2016).

İnsan mikrobiyomu, taksonomik sınıflandırmanın yanı sıra, Bacteroides, Prevotella veya Ruminococcus olmak üzere üç ayrı enterotipe ayrılır. Enterotip 1, Bacteroides'in hâkim olduğu ve sakkarolitik ve proteolitik aktivitelere sahip olduğu bir enterotiptir (Arumugam ve ark., 2011). Enterotip 2, musin glikoproteinini parçalayan bir aktiviteye sahip olan ve Prevotella'nın hâkim olduğu bir enterotiptir. Enterotip 1, biotin, riboflavin, pantothenat ve askorbat sentezinde rol oynarken, enterotip 2 tiamin ve folat sentezinde rol oynar. Enterotip 3, şekerlerin zar taşımada ve musin parçalama aktivitelerinde rol oynayan Ruminococcus'un hâkim olduğu bir enterotiptir. Ancak, enterotiplerin kavramı, bireyler arasında yüksek derecede varyasyon gözlemlenmesi ve verilerin daha çok sürekli bir durum yerine üç ayrı küme göstermesi nedeniyle tartışılmaktadır. Bu tartışma, diyet farklılıklarıyla ilgili değildir, ancak açıkça diyet, farklı kompozisyon tiplerini belirler (Knights ve ark., 2014).

Uzun süreli hayvansal protein ve yağ tüketimi Bacteroides enterotipi için zengin bir ortam oluştururken, karbonhidrat zengini diyet Prevotella'nın çoğalmasını teşvik eder. Bazen, Ruminococcus ve Bacteroides enterotipi örtüşür ve ayırt edilemez hale gelir. Tayvanlı bir araştırmacılar grubu, enterotipleri Bacteroides, Prevotella ve Enterobacteriaceae olarak sınıflandırdı ve bu durumu diyet alışkanlıkları ile ilişkilendirdi.

Ayrıca, Enterobacteriaceae'nin Asya nüfusunda yeni bir alt enterotip olabileceğini öne sürdüler. Bağırsakta hangi enterotipin hakim olduğuna bakılmaksızın, bakteri filumlarının bolluğu bireyden bireye önemli ölçüde değişebilir. Burada bazı mikrobiyal üyeler "çekirdek mikrobiyota" olarak işlev görürken, diğerleri daha çok "esnek havuz" gibi davranır. "Çekirdek mikrobiyota" tekrarlanabilirliği sağlamak için adapte olurken, "esnek havuz" bir bireyin çevresine uyum sağlamasına yardımcı olur. Esnek havuz genellikle tüketilen yiyecek, su ve çevreden çeşitli bileşenlerden alınır. Mikrobiyal türler, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* ve *Bacteroides uniformis*, çekirdek bakteri türleri olarak kabul edilir ve bunlar genelde göreceli bolluk olarak %0,5'ten azdır. Bazen, çekirdek ve esnek havuz arasındaki genetik materyal alışverişi, bir bireyin çevresine veya bir diyet alışkanlığına uyum sağlama konusunda ona avantaj sağlar (Wu ve ark., 2011).

2.2.1 Yaşa bağlı değişen mikrobiyota yapısı

İnsan mikrobiyotası, ev sahibiyle birlikte yaşamaktadır ve insan vücudunun ayrılmaz bir parçasıdır. Mikrobiyota, doğumda edinilir ve ev sahibiyle paralel olarak gelişir ve yetişkinlik boyunca ölümüne kadar vücutta önemli bir rol oynar. Bir yüzyıllık araştırma, rahim, plasenta, amniyotik sıvı ve mekonyumun steril olduğunu ve mikrobiyotanın doğumdan sonra edinilmeye başladığını iddia etmiştir. Ancak, son zamanlarda yapılan PCR ve DNA dizileme temelli yöntemler, plasenta, amniyotik sıvı ve mekonyumda bakteri topluluklarının varlığını öne sürmüştür (Perez-Muñoz ve ark., 2017). Bu ileri teknikler, yetiştirilebilir yaklaşımın kısıtlamalarını aşsa da, bazı içsel kısıtlamaları vardır. Öncelikle, tespit edilen bakteriyel DNA, ya canlı ya da ölü bakterilerden gelebilir. Örneğin, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*, moleküler yaklaşımla plasentada tespit edilmiştir; ancak, bu bakteriler, kolayca yetiştirilebilen organizmalar olmalarına rağmen, yetiştirilemez hale gelmiştir (Satokari ve ark., 2009). İkincisi, düşük mikrobiyal biyokütleli bir örneğin DNA tabanlı değerlendirmeleri, klinik ortamda hataya ve kontaminasyona son derece eğilimlidir. "Steril rahim" ve "in utero kolonizasyon" olmak üzere iki karşıt hipotez üzerinde tartışma vardır. Bu tartışmanın yanı sıra, doğum öncesi stres, antibiyotik tedavileri ve uzun süreli gebelik dâhil çeşitli anne faktörlerinin, yeni doğan bir bebeğin bağırsak mikrobiyotasının kolonizasyonunda rolleri vardır (Perez-Muñoz ve ark., 2017). Birkaç çalışma, gebelik sırasında hormonal profillerin değişikliklerini ve bunların vajinada *Lactobacillus* (*iners*, *crispatus*, *jensenii* ve *johnsonii*) ve *Clostridiales*, *Bacteroidales* ve *Actinomycetales*'in büyümesini teşvik ettiğini

göstermiştir (Farage ve ark., 2010; Aagaard ve ark., 2012). Vajinal doğum sırasında, bir bebek bu mikropları bağırsaklarında edinir. Bunun aksine, sezaryen ile doğan bir bebek, annesinin cildinden *Staphylococcus*, *Corynebacterium* ve *Propionibacterium* türleri dahil mikropları edinir. Sezaryenle doğan bebekte daha düşük mikrobiyal çeşitlilik ve *Bacteroidetes*'in gecikmiş kolonizasyonu, bebeği belirli patojenlere ve atopik hastalıklara karşı savunmasız kılar (Dominguez-Bello ve ark., 2010). Doğumdan sonra, anne sütü ile beslenen bebekler, formülle beslenen bebeklerden daha çok lizozim, immünoglobülin, laktoferrin, glikan, sialilasyon ve diğer karmaşık oligosakkaritler tüketir. Sonuç olarak, anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyotası *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* sp. ile domine edilirken, formülle beslenen bebekler *Clostridium*, *Granulicatella* *Citrobacter*, *Enterobacter* ve *Bilophila* ile domine edilir (Pacheco ve ark., 2015; Bäckhed ve ark., 2015a). Bu kanıtlar, vajinal doğum ve anne sütü ile beslenen bebeklerin, formülle beslenen bebelere göre daha sağlıklı bağırsak mikroplarına sahip olduğunu göstermektedir. Bundan sonra, 3-5 yaşları arasında, mikrobiyotanın dengesiz yapısı ve bileşimi farklılaşmaya başlar ve yetişkinlerinkine benzer bir yapıya (yaklaşık %40-60) sahip olur (Bäckhed ve ark., 2015a). Bu dönemde, bağırsak mikrobiyomu da en erken laktoz kullanımından bitki polisakkarit sindirimine, vitamin biyosentezine ve ksenobiyotik parçalanmasına paralel olarak değişir (Koenig ve ark., 2011).

Eğer yetişkinlikte uzun süreli diyet alışkanlıklarında, antibiyotik tedavisinde, strese ve patofizyolojide bir değişiklik olmazsa, oluşmuş mikrobiyotanın bileşimi ve işlevleri aynı kalır. Çin'de yapılan uzun ömür üzerine araştırmalar, *Roseburia* ve *E. coli* türlerinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğunu, buna karşılık *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Parabacteroides*, *Butyricimonas*, *Coprococcus*, *Megamonas*, *Mitsuokella*, *Sutterella*, ve *Akkermansia* türlerinin yüz yaşını aşan kişilerde belirgin bir şekilde daha düşük olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2015). İtalya'da yüz yaşını aşan kişiler üzerine yapılan araştırmalar, yaş ilerledikçe ana mikrobiyota (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, ve *Bacteroidaceae*) bolluğunda bir azalma ve subdominant türler ve aileler (*Eggerthella*, *Akkermansia*, *Anaerotruncus*, *Synergistaceae*, *Bilophila*, ve *Christensenella*) bolluğunda bir artış olduğunu göstermiştir. *Akkermansia*, *Bifidobacterium* ve *Christensenella*'nın bolluğu, sağlıklı yaşlanma ve uzun ömür için bağırsak ekosisteminde potansiyel bir imza olarak tanımlanmıştır (Wang ve ark., 2015; Derrien ve ark., 2017). Yüz yaşını aşan kişilerde, Firmicutes filumundaki değişiklikler ve 'patobiyon'ların zenginleşmesi ve sitokinler TNF- α , IL-6, MCP-1 ve IL-8 aracılığıyla proinflamatuvar yanıt nedeniyle yaşam süresi azalmıştır (Franceschi ve ark., 2017). Bunun

aksine, mikrobiyal salgılanan kolonik asit, bir polisakkarit olan *Caenorhabditis elegans*'in uzun ömrünü ayarlamak için mitokondri füzyon ve füzyon dinamiklerini düzenlemiştir (Han ve ark., 2017). Dolayısıyla, bağırsak mikrobiyotası, insan sağlığı ve hastalığındaki rolü nedeniyle, yaşamın her aşamasında önemlidir. Mikrobiyota, bir bebek doğduğunda başlar ve yetişkinlik boyunca vücutta önemli bir rol oynamaktadır.

2.2.2 Mikrobiyotanın fonksiyonları

Gut microbiota perform their function on four diferent landscapes in the human body: metabolic, protective structural and neurological.

2.2.2.1 Metabolik

2.2.2.1.1 Diyet lifleri

İnsan Gastrointestinal (GI) sistemi, karbonhidratların yaklaşık %85'ini, proteinlerin %66-95'inive tüm yağları sindirir. Kolonda, bağırsak mikrobiyotası enerjinin yaklaşık %10-30'unu tüketir ve geri kalanı dışkı olarak atılır (Bergman, 1990). Diyet lifleri, lignin, nişasta olmayan polisakkaritler, dirençli nişasta (RS) ve oligosakkaritler (örneğin, frukto-oligosakkaritler (FOS) ve galakto-oligosakkaritler (GOS) ev sahibi sindirim enzimlerine dirençlidir (Anderson ve ark., 2009).

Bağırsak mikropları, bu çeşitli karbonhidratları kullanmak için bir dizi enzime sahiptir. Karbonhidrat aktif enzim (CAZy) veritabanı (<http://www.cazy.org/>), tüm enzimleri belgeler ve bunları glikozidazlar gibi dört aileye kategorize eder: glikozid hidrolazlar (153 alt aile), glikozil transferazlar (106 alt aile), polisakkarit liyazlar (28 alt aile) ve karbonhidrat esterazları (16 alt aile) (Lombard ve ark., 2014). Bacteroidetes ve Firmicutes filumlarından üyeler, farklı polisakkaritleri karbon kaynağı olarak kullanmak için genomlarında GH kodlayan genlerin en geniş setine sahiptir. Kalın bağırsaktaki bağırsak mikrobiyotası, tüm diyet liflerini fermente eder, bu da gazların (metan, hidrojen ve karbon dioksit), kısa zincirli yağ asitlerinin (formiat, asetat, propiyonat, bütrat, valerat, izovalerat ve heksanoat), daha küçük miktarda organik asitlerin (laktat ve süksinat) ve alkollerin (metanol ve etanol) salınmasına neden olur. Bağırsak mikrobiyal türleri olan *Roseburia spp.*, *Eubacterium rectale* ve *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Clostridium* grupları IV ve XIVa, SCFA'ların ana üreticileridir (Louis ve Flint, 2009). SCFA'lar arasında asetat, propiyonat ve bütrat yaygındır ve diyetlere bağlı olarak çekumda 40:40:20 ile 75:15:10 molar oranında bulunur. SCFA'lar (%90-95) kolonda pasif difüzyon veya iyon değişim süreci ile emilir ve insanın kalorik talebinin yaklaşık %10'unu

karşılar (Duncan ve ark., 2007). Asetat, kanda (0.10-0.15 mM) bulunur ve enerji kaynağı olarak periferik dokulara ve karaciğerde lipogeneze ve kolesterol biyosentezine hizmet eder. Bütrat, kolonositlerin enerji kaynağı olarak hizmet eder ve keton cisimleri ve karbon dioksit üretir. Sadece enerji kaynağı olmanın yanı sıra, bütrat ayrıca enerji homeostazını da düzenler. Bütrat, bağırsak enteroendokrin hücrelerinin uyarılmasını sağlar ve adipositlerden leptin üretimi dâhil olmak üzere Glukagon benzeri peptid-1'in L hücrelerinde üretilmesini sağlar (Nicholson ve ark., 2012; Rooks ve Garrett, 2016). Ayrıca safra asitlerinin ve fenollerin zararlı metabolitlerinin etkisini azaltır. Propiyonat genellikle kolonositleri geçer ve karaciğere taşınır, burada asetatin fonksiyonunu üstlenir (Donohoe ve ark., 2011). Böylece, propiyonat da vücut için bir enerji kaynağı olarak hizmet eder ve karaciğerde enerji metabolizmasını düzenler. Bu tür metabolik etkileşimler, bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı ve hastalığı üzerindeki genel etkisini gösterir. Bu da bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı yaşlanma ve ömür boyu süreçlerin önemli bir faktörü olduğunu destekler. Bu, bağırsak mikrobiyotasının fonksiyonlarının ve dengesinin korunmasının, genel sağlık ve yaşlanma sürecinde önemli olduğunu vurgular.

2.2.2.1.2 Protein ve amino asitler

Kalın bağırsakta, sindirilmemiş protein, bakteriyel proteazlar ve peptidazlar aracılığıyla peptidlere, amino asitlere ve diğer metabolitlere parçalanır. Bu metabolitler genel olarak nöroaktif bileşikler (nitrik oksit, triptamin ve fenetilamin), sülfür içeren metabolitler (H₂S), aromatik bileşikler (fenol, p-kresol ve indol), poliaminler (spermin, spermidin ve kadaverin), SCFA'lar (dal zincirli amino asitlerden gelen izobütrat, 2-metilbütrat ve izovalerat) ve amonyak olmak üzere sınıflandırılabilir. Fenol, p-kresol ve indol gibi bazı metabolitlerin IBD, kolorektal kanser ve böbrek disfonksiyonunu tetiklediği gösterilmiştir (Nicholson ve ark., 2012).

Besinsel protein kaynakları, bağırsak mikrobiyal bileşimi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. Örneğin, sığır eti açısından zengin bir diyet, *Bacteroides* ve *Clostridiopopülasyonunu* artırmış, ancak *Bifidobacterium adolescentis* bolluğunu azaltmıştır. Buna karşın, bezelye ve whey proteinleri hem *Bifidobacterium* hem de *Lactobacillus*'un büyümesini teşvik ederken, whey ek olarak patojen *Bacteroides fragilis* ve *Clostridium perfringens*'in baskılanmasına yardımcı olmuştur. İlginç bir şekilde, protein ve amino asitler, kommensal mikroorganizmalarla birlikte, gıda tercihini, davranışı ve üremeyi de etkilemektedir (Meddah ve ark., 2001). Ayrıca, besin proteininin karbonhidrata oranının, bağırsak mikrobiotasının katabolik yollarını belirlediği

belirlenmiştir. Katabolizma, GABA (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* ve *Lactococcus lactis*), norepinefrin (*Escherichia spp.* ve *Bacillus spp.*), dopamin (*Bacillus spp.*), histamin ve serotonin (*Streptococcus spp.*, *Escherichia spp.* ve *Enterococcus spp.*) üretimine yol açmıştır. Bu katabolik ürünlerin, bağırsak-beyin eksenini düzenlemede veya bir ev sahibinin azot dengesini sürdürmede etkili bir rolü almaktadır (Portune ve ark., 2016).

2.2.2.1.3 Lipitler

Yüksek yağlı diyet (HFD), mikrobiyal disbiyozu tetikler, yağ dokusunda yağlanmayı ve düşük derecede iltihaplanmayı artırır. Deneysel kanıtlar, HFD tüketiminin Bacteroidetes'de bir azalmaya ve hem Firmicutes hem de Proteobacteria'da artışa neden olduğunu öne sürmektedir (Murphy ve ark., 2015). Doymuş yağ bakımından zengin diyetler, *Bacteroides*, *Bilophila* ve *F. prausnitzii* popülasyonunu artırırken, doymamış yağ asidi, laktik asit bakterilerini, *Bifidobacteria* ve *A. muciniphila*'yı artırdığı görülmüştür (Benítez-Páez ve ark., 2016; Vaughn ve ark., 2017).

2.2.2.1.4 Safra asidi

Safra asidi, fazla kolesterolün atılması için karaciğerde en az 17 farklı enzim tarafından sentezlenen bir steroid asittir. Kolesterolün hidroksilasyonu, kolesterol 7 α hidroksilazın etkisiyle birincil safra sentezini başlatır ve chenodeoxycholic asit (yüzde 45) ve cholic asit (yüzde 31) üretir. Birincil safra asitlerinin kanaliküler lümenine salınması öncesinde, son karboksil grubundaki bir amid bağı aracılığıyla glikin veya taurin ile konjuge olurlar. Bu gluko- ve tauro-konjugatlar, diyet yağları, yağda çözünen vitaminler ve kolesterolün metabolizmasını kolaylaştırmak için daha çok amfipatik (hem su hem de yağda çözünen) özellik gösterirler (Thomas ve ark., 2008). Duodenuma salınan konjuge safra tuzunun yüzde 95'i, enterositlerin fırça sınır membranında bulunan sodyum bağımlı safra taşıyıcısı aracılığıyla distal ileumdan (ince bağırsağın son kısmı) tekrar emilir. Emilmeyen safra tuzunun küçük bir kısmı, bağırsak mikrobiyotasının safra tuz hidrolazı eylemiyle dekonjuge olur ve deoxycholate, ursodeoxycholate ve lithocholate üretir (Nicholson ve ark., 2012; Selwyn ve ark., 2015). Bu ikincil safra asitleri, kolonda pasif olarak emilir ve enterohepatik dolaşım aracılığıyla karaciğere geri taşınır, geri kalan kısmı ise dışkıyla atılır. Safra asitlerinin dönüşümü, anaerobik *Bacteroides*, *Eubacterium* ve *Clostridium* (Kümeler XIVa ve XI) bakteri türleri ve *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* gibi küçük bir miktar aerobik bakteri tarafından gerçekleştirilir. Safra tuz hidrolazı,

Laktobasiller ve Bifidobakteriler dahil olmak üzere insan bağırsağında da bulunur. Safra tuzlarının $7\alpha\beta$ -dehidroksilasyon ile dekonjuge olması, onların hidrofobikliğini artırır, emilimini azaltır ve obezite ve kanser dâhil olmak üzere patolojik etkiler gösterebilmektedir (Wahlström ve ark., 2016; Long ve ark., 2017).

2.2.2.1.5 Kolin

Kolin, birçok bitki ve hayvan organında bulunan lesitin bir bileşeni olan, esansiyel (vücut tarafından üretilmeyen ve diyetle alınması gereken) ve suda çözünebilir bir besindir. Kolin ve metabolitleri, hücre zarlarının yapısal bütünlüğünü ve sinyal gönderme rollerini, kolinergik nörotransmisyonu (asetilkolin sentezi) korur ve metaboliti olan trimetilglisin (betain) aracılığıyla metil grupları için bir kaynak sağlar. Bu metil grupları, S-adenosilmetionin'in biyosentezine katılır. Bağırsak mikrobiyotası, kolinin metabolizmasını gerçekleştirir ve bunun sonucunda trimetilamin (TMA) oluşur. Bu TMA, bağırsakta emilir. Ayrıca, TMA karaciğerde flavin monooksijenaz 1 ve 3 (FMO1 ve FMO3) tarafından trimetilamin-N-oksit (TMAO)'a dönüştürülür. TMAO'nun oluşumu, karaciğerdeki insülin sinyallemesini ve glukoz toleransını olumsuz etkiler, ayrıca yağ dokusu iltihaplanmasını, ateroskleroza ve kardiyovasküler hastalıkları teşvik eder (Schugar ve ark., 2017). Diyet kolininin mikrobiyal dönüşümü, kardiyovasküler hastalıkların yeni bir metabolik belirtisi olarak kabul edilmektedir. Kolin açısından zengin bir diyet tüketildiğinde TMA üreten sekiz bağırsak bakterisi türü (*C. sporogenes*, *Anaerococcus hydrogenalis*, *Providencia rettgeri*, *C. asparagiforme*, *C. hathewayi*, *E. fergusonii*, *Proteus penneri* ve *Edwardsiellatarda*) tespit edilmiştir (Romano ve ark., 2015). *Desulfovibrio desulfuricans*'ta kolinin TMA ve asetaldehite dönüştürülmesinden sorumlu olan iki enzim (CutC ve CutD) rapor edilmiştir (Thibodeaux ve Van Der Donk, 2012).

2.2.2.1.6 Polifenol

Polifenoller, shikimat/fenilpropanoid ve/veya poliketid yolları aracılığıyla çeşitli bitkilerde oluşan ikincil metabolitlerdir. Bir polifenol, bir veya daha fazla fenolik birim içerir ve genellikle flavonoidler ve non-flavonoidler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Polifenollerin çoğunluğu, glukoz, galaktoz, rhamnoz, ribuloz, arabinopirinoz ve arabinofuranoz birimleri gibi farklı şekerlerle konjuge edilmiş glikozitler şeklinde bulunur. İnaktif polifenoller arasında flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller, kateşinler, antosiyaninler, izoflavonlar, hidroksisinnamik asitler, lignanlar vb. bulunur ve

bu bileşikler, bağırsak mikrobiyotasının ince bağırsakta şekerleri ayırmasıyla aktif bileşenlere dönüşür (Marín Fernández ve ark., 2015). Hidroksisinnamik asitler gibi polifenoller genellikle şekerlere, organik asitlere ve lipidlere esterleşir ve mikrobiyal esterazlar tarafından aglikonlara dönüştürülür. Aglikonlar, ince bağırsak veya kolonda emilir ve hidroksifenilasetik asitlere metabolize olur. Ellagik asit ve ellagitanninler gibi diğer diyet polifenolleri, *Gordonibacter spp.* tarafından anti-inflamatuvar bir metabolit olan urolitin A'ya dönüştürülür (Romo-Vaquero ve ark., 2015). Polifenoller, ayrıca bağırsak metabolitlerini detoksifiye edebilir ve *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* ve *Bacteroides spp.* gibi patojenik bakterilerin büyümesini baskılamaktadır (Nicholson ve ark., 2012).

2.2.2.2 Koruyucu rolü

Gastrointestinal (GI) sistem, bağırsak mikrobiyotası ve bağırsak bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimsel yapıyı sağlar. Bağırsak bağışıklık sisteminin ilk katmanı, bağırsakta yaşayan mikroorganizmalarla temel bir bağa sahip olan bağırsakla ilişkili lenfoid ve Peyer yamaçlarıyla gelişir. Gelişmiş bağışıklık bariyeri ve bir dizi bağışıklık mekanizması, kommensallerin epitelyal hücre yüzeyiyle doğrudan temasını sınırlar. İntestinal dokuya nüfuz etmeden bakterileri hızla tespit eden ve öldüren ikinci bir bağışıklık katmanı bulunmaktadır. Sistemik bağışıklık sistemini aktive etmeden, mukozada lokalize olan üçüncü bir bağışıklık tepkisi bulunmaktadır. Doğal bağışıklık bariyeri, mukus, antimikrobiyal peptitler ve salgılanan IgA'dan oluşur (Round ve Mazmanian, 2009).

2.2.2.2.1 Mukus tabakası

Mukus tabakası, goblet hücrelerden salgılanan ve bağırsak epitel hücrelerine doğrudan mikropların yapışmasını önleyen bir viskoz jel benzeri tabaka oluşturan musin glikoproteinden oluşur. Ayrıca bir yağlayıcı görevi görür ve luminal içerikleri epitel hücre zararına zarar vermeden taşır. Kimyasal olarak, musin omurgası, aralarında O-bağlı glikozillenmiş (%70-80) ve glikozillenmemiş alanların bulunduğu bir peptitten oluşur. N-Asetilglukozamin, N-asetilgalaktozamin, fukoz ve galaktoz, ya terminal sialik asit veya sülfat gruplarına sahip olan dört ana musin oligosakkarittir. Sülfatlı (sulfomusinler) veya sülfatlı olmayan (sialomusinler) musinler asidiktir ve kalın bağırsak epitel hücrelerinde ifade edilir. Mukus tabakası, epitel hücreleri üzerinde yaklaşık 150 µm kalınlığında bir tabaka oluşturur ve değişen sialo- ve sülfomusinlerin iki ayrı tabakasını oluşturur. Asidik

sülfatlı musin, epitel hücrelerine yakındır ve bakteriyel glikosidazlar ve konak proteazları tarafından daha az parçalanabilir. Asidik musin, komensallerin kolonik epitel hücrelerine doğrudan yapışmasını önler (Johansson ve ark., 2008). Musin sadece bir bariyer görevi görmez, aynı zamanda komensaller için doğrudan karbonhidrat ve peptid kaynağı sağlar. Örneğin, *Bacteroides thetaiotaomicron*, fukoza glikanlardan ayıran çoklu fukosidazlar üretir ve mukus salgılamasında goblet hücrelerini aktive eder. Bunun yanında, *Bacteroides fragilis*, bakteriyel dış zarın bir bileşeni olan fukosillenmiş kapsüller polisakkaritler sentezler, bu da rekabetçi ve tercih edilen kolonizasyon için avantajlar sağlar (Xu ve ark., 2003b).

2.2.2.2 Antimikrobiyal peptidler (AMP'ler)

Bağırsak epitel hücreleri tarafından salgılanan antimikrobiyal peptidler (AMP), enterositler, Goblet ve Paneth hücreleri dâhil olmak üzere, komensallerin ve patojenlerin epitele erişimini kısıtlar. AMP'ler, defensinler, katelisinler ve C-tipi lektinler dahil olmak üzere, mukus tabakasında genellikle korunmuş küçük (20-40 amino asit) katyonik proteinler grubudur. Bunlar, negatif yüklü mikrobiyal hücre zarlarına bağlanabilir veya hücre duvarını enzimatik olarak saldırarak dış veya iç zarı bozabilir. Defensinler α , β ve θ defensinler olmak üzere sınıflandırılan ana antimikrobiyal peptittir (Pütsep ve ark., 2000). Mikroorganizma ilişkili moleküler desenler, bakterilerin epitel katmanına nüfuz etmesini kısıtlamak için sitosolik adaptör miyeloid diferansiyasyon primer-yanıt protein 88'i (MYD88) aktive eden toll benzeri reseptörleri (TLR'ler) aktive eder (Şekil 3). Örneğin, RegIII γ , bir salgılanan antibakteriyel lektin, Gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir ve SI'deki epitelyal yüzeyden mikrobiyotayı fiziksel olarak ayıran yaklaşık 50 μ m'lik bir bölge oluşturur (Cash ve ark., 2006).

Mikrobiyal sinyaller, doğuştan gelen immün yanıtın bir parçası olan, epitel hücreler tarafından salgılanan ve epitel hücrelerini bağırsak mikrobiyotasına karşı koruyan bu AMP'lerin ekspresyonunu modüle edebilir. Bu süreç, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini ve bütünlüğünü korumak için önemlidir. AMP'ler, hem bakteriyel patojenlere hem de faydalı bağırsak bakterilerine karşı epitel hücrelerini koruyarak bağırsak sağlığını korumaya yardımcı olur. Sonuç olarak, antimikrobiyal peptidler, bağırsak epitel hücrelerinin mikrobiyal patojenlere karşı savunmasında önemli bir rol oynar ve bağırsak mikrobiyotasının ev sahibi hücrelerle etkileşimini düzenler. Bu peptidler, bağırsak sağlığı ve hastalığı arasındaki karmaşık ilişkilerin daha iyi anlaşılmasında kilit bir rol oynayabilir (Pütsep ve ark., 2000).

2.2.2.2.3 IgA

Secretory IgA (SIgA), bağırsak zarını toksinlere ve zararlı mikroorganizmalara karşı korur ve üçüncü savunma hattını oluşturur. Sindirim sistemi boyunca bulunan lenfoid doku bölgeleri olan Peyser'in yamalarında bulunan özelleşmiş hücreler, potansiyel tehditleri belirlemek için bağırsak lümeninden rastgele antijenler yakalar. Bu antijenler, Peyser'in yamalarındaki diğer hücrelere transfer edilir ve bunlar IgA üretimini tetikleyerek bağırsaklık yanıtını başlatır. SIgA, bağırsak duvarından lümenine doğru taşınır ve burada bakterileri mukus içine hapsederek, onların zararlı toksinlerini nötralize eder ve zararlı mikroorganizmaların bağırsak hücrelerine ulaşmasını engeller. Bu da onların sindirim sistemi içerisinde ilerlemesini ve zarar vermesini önler (Macpherson ve Uhr, 2004).

Ancak, bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlikler (disbiyoz), bazı zararsız bakterilerin aşırı çoğalmasına ve "patobiyont" haline gelmesine neden olabilir. Bu durum, bağırsaklık sisteminin toleransının azalmasına ve iltihaplanma tepkisinin artmasına yol açabilir. Örneğin, deney ortamında yapılan bir çalışmada, *H. hepaticus* adlı bir bakteri türünün aşırı çoğalması, iltihaplanmayı tetikleyen TH17 hücrelerinin aktivasyonuna yol açmıştır. Buna ek olarak, çocukların kötü beslenmesi de bağırsak mikrobiyotasının dengesini ve IgA yanıtını etkileyebilir. Örneğin, Malawi'deki kötü beslenmiş çocukların bağırsak mikrobiyotası, bağırsak epitelyal bariyerinde hızlı bir bozulma, kilo kaybı ve sepsise neden olan 11 IgA(+) bakteri türü içermektedir. Bu durum, sağlıklı bir mikrobiyotadan alınan iki IgA-hedefli bakteri türünün verilmesiyle engellenebilmiştir (Kau ve ark., 2015).

2.2.2.2.4 Doğal ve adaptif bağırsaklık

Doğal bağırsaklık yanıtı, kalıtsal olarak kodlanmış desen tanıma reseptörleri aracılığıyla kommensalleri ve patojenleri ayırt edebilir. Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), bakteri kaynaklı lipopolisakkarit (LPS), lipoprotein, fajelin ve CpG içeren DNA gibi korunmuş mikrobiyal ilişkili moleküler desenleri tanıır. TLR1, TLR2 ve TLR6 alt aileleri lipitleri tanıırken, TLR7, TLR8 ve TLR9 nükleik asitleri tanıır. Bununla birlikte, TLR5 fajelin tanıırken, TLR4 lipopolisakkarit ve bitki diterpen paclitaxel gibi yapısal olarak ilişkisiz ligandları tanıyabilir. Bakteriyel peptidoglikan tabakasının γ -d-glutamil-mesodiaminopimelik asit ve muramil dipeptidi gibi sitoplazmik antijenleri NOD benzeri reseptörler tarafından tanıır. Dendritik hücreler (DC'ler) ve makrofajlar gibi antijen sunan hücreler ayrıca TLR'leri ifade eder, patojenleri içine alır ve parçalar, ortak uyarıcı

moleküller ve sitokinler ifade eder. Bu sitokinler, naif CD4⁺ T hücrelerini T yardımcı 1 (TH1), TH2, TH17 ve Treg ve TR1 hücrelerine farklılaştırmaya yardımcı olur (Şekil 3). Treg hücreleri ve CD4⁺ efektör T hücrelerinin bağırsak mukozasındaki dengesi kommensal ve patojenik mikrobiyal bileşenleri ayırt eder. Mikrobiyal disbiyoz, TH1, TH2 ve TH17 hücreler aracılığıyla indüklenen inflamatuvar yanıtı neden olabilir. TH1 ve TH2 hücre aktivasyonunun alt kümeleri, IL-4, IL-5, IFN- γ ve IL-13 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin ifadesiyle karakterizedir. TH17 hücresi, IL-17'nin senteziyle karakterizedir ve stromal hücreleri IL-6, IL-8 ve IL-22 gibi pro-enflamatuvar sitokinleri ifade etmeye teşvik eder.

2.2.2.2.5 Mikrobiyota tarafından üretilen ve bağışıklıkta rol alan metabolitler

Doğuştan gelen bağışıklık yanıtı, kalıtsal olarak kodlanmış desen tanıma reseptörleri aracılığıyla zararsız (komensal) ve zararlı (patojen) mikroorganizmaları ayırt edebilir. Toll benzeri reseptörler (TLR'ler), patojenlerden türetilen lipopolisakkarid (LPS), lipoprotein, flagellin ve metillenmemiş CpG içeren DNA gibi korunmuş mikrobiyal moleküller desenleri tanır (Akira ve ark., 2006). TLR1, TLR2 ve TLR6 alt grupları lipidleri, TLR7, TLR8 ve TLR9 ise nükleik asitleri tanır. Ancak, TLR5 flagellini ve TLR4, lipopolisakkarid ve bitki diterpeni paclitaxel gibi yapısal olarak ilgisiz ligandları tanır (Akira ve ark., 2006). Bakteriyel peptidoglikan tabakanın γ -d-glutamil-meso-diaminopimelik asit ve muramil dipeptid gibi hücre içi antijenleri, NOD benzeri reseptörler tarafından tanınır (Chamaillard ve ark., 2003; Kobayashi ve ark., 2005). Antijen sunan hücreler olan dendritik hücreler (DC'ler) ve makrofajlar da TLR'leri ifade eder. Bu hücreler, patojenleri yutar, parçalar ve yardımcı moleküller ile sitokinleri ifade eder. Bu sitokinler, CD4⁺ T hücrelerini T helper 1 (TH1), TH2, TH17 ve Treg ve TR1 hücrelerine dönüştürmeye yardımcı olur (Akira ve ark., 2006). Bağırsak mukozasındaki Treg hücreleri ve CD4⁺ efektör T hücrelerinin dengesi, komensal ve patojenik mikrobiyal bileşenler arasındaki farkı belirler. Mikrobiyal dengesizlik, TH1, TH2 ve TH17 hücreler aracılığıyla inflamatuvar bir yanıtı tetikleyebilir (Hooper ve ark., 2002). TH1 ve TH2 hücre alt kümesinin aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinler olan IL-4, IL-5, IFN- γ ve IL-13'ün ifadesi ile karakterizedir (Hooper ve ark., 2002; Ivanov ve ark., 2008). TH17 hücresi, IL-17'nin sentezi ile karakterizedir ve bu, stromal hücrelerin pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve IL-8 ve IL-22'yi ifade etmesini uyarır (Hooper ve ark., 2002; Ivanov ve ark., 2008).

2.2.2.2.6 Kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar)

İnce bağırsakta sindirilip emilmeyen karbonhidratlar, kalın bağırsakta bulunan bir dizi mikroorganizma tarafından kullanılır. Kalın bağırsaktaki mikroorganizmaların sakarolitik (şeker parçalayan) aktiviteleri, bu sindirilmemiş karbonhidratları fermente eder ve bu süreç sonucunda kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar) oluşur: asetat, propionat ve butirat. SCFA'lar, ya hücrelere taşınır ya da hücrelere difüzyon yoluyla geçer ve G proteinine bağlı reseptörler olan GPR41, GPR43 ve GPR109A aracılığıyla epitel ve bağışıklık hücrelerinde algılanır (Rooks ve Garrett, 2016).

Butirat, GPR43 ile bağlanır ve anti-inflamatuar sitokinlerin (TGF β ve IL-10 gibi) üretimini aktive eder ve ayrıca Treg hücrelerinin FOXP3'ünü artırır. Butirat, histon deasetilaz aktivitesini inhibe eder ve nükleer faktör- κ B aracılı inflammatuar yanıtı düşürür. Deneysel kanıtlar, asetatın butirattan daha yüksek bağlanma afinitesine sahip olduğunu göstermiştir. Asetat verilmesi, vahşi tip farelerin bağırsaklarında IgA salgılanmasını uyardı, ancak GPR43 $^{-/-}$ knockout farelerde bu etki görülmedi. Asetat, DC'deki Aldh1a2'nin ifadesini uyardı, bu da vitamin A'yı, bariyer fonksiyonunu güçlendirmek için mukus ve IgA salgılama sinyalini sağlayan retinoik aside dönüştürür (Wu ve ark., 2017).

2.2.2.2.7 Aril hidrokarbon reseptörü (AHR)

Aryl hidrokarbon reseptörü (AHR), epitel ve bazı tümör hücrelerinde ifade edilen bir sitoplazmik ligand-indüklenen reseptördür. Triptofanın bir metaboliti olan kynurenin, AHR'nin bir ligandıdır. Üç grup mikrobiyal metabolit, yani (1) triptofan türevi (indol, indol-3-asetat ve triptamin), (2) bakteriyel virülans faktörleri (fenazin, naftokinon ve ftikol) ve (3) kısa zincirli yağ asitleri de AHR'ye bağlanır. Bazı diyet bileşenleri de AHR'nin ligandlarıdır; bunlar arasında flavonoidler, stilbenler, karotenoidler ve bitkilerden gelen indoller bulunmaktadır (Hubbard ve ark., 2015; Rooks ve Garrett, 2016).

AHR ligandları, metal iyonlarını kaparak *Citrobacter rodentium* ve *Candida albicans* enfeksiyonlarını önler. Diyetle verilen sentetik AHR ligandlarının takviyesi ve intraepitelyal lenfositlerin Ahr $^{-/-}$ farelere transfüzyonu, epitel bariyer fonksiyonunu onarır ve disbiyotik bakteri popülasyonunu normale döndürür (Li ve ark., 2011).

2.2.2.2.8 Poliaminler

Poliaminler polikationik doğada bulunan ve tüm yaşam formlarında bulunan bileşiklerdir. Poliaminlerin üç ana kaynağı vardır: gıda, hücrel biyosentez ve

bağırsaktaki mikrobiyal biyosentez. Ana poliaminler putrescin, spermidin ve spermin olup, bu bileşikler argininden, arginaz 1 enzimi (arginini ornitin'e dönüştüren) tarafından sentezlenir. Ornitin dekarboksilaz (ornitinden putrescin oluşturan) ve diğer enzimler ardışık olarak putrescini spermidin ve spermin'e dönüştürür (Rooks ve Garrett, 2016). Arginaz 1 ve nitrik oksit sentaz, ya poliaminler ya da nitrik oksit üretmek için arginin üzerinde rekabet eder ve bu da bağışıklık yanıtlarının dengelenmesine yardımcı olur. Argininin *B. animalis* subsp. *lactis* LKM512 ile birlikte verilmesi, kolonik poliaminleri artırarak kolonik ve dolaşımdaki TNF- α ve IL-6 seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Kibe ve ark., 2014). Arginin takviyesine ek olarak, spermin de ornitin dekarboksilazın ifadesini baskılayarak M1 makrofajın aktivasyonunu inhibe edebilir ve böylece pro-inflamatuar sitokinlerin sentezini düşürür ancak anti-inflamatuar araçlar TGF β ve IL-10'un ifadesini değiştirmez (Zhang ve ark., 2000). Poliaminlerin artışı, süt ile beslenen sıçan yavrularında intraepitelyal CD8+ ve CD4+ T hücrelerinin olgunlaşmasını hızlandırır ve dalakta B hücrelerinin erken görünümünü sağlamaktadır (Perez-Cano ve ark., 2010).

2.2.2.3 Yapısal rolü

Hippokrat (MÖ 400) "kötü sindirim tüm kötülüklerin köküdür" ve "ölüm bağırsaklarda oturur" şeklinde ifadelerle, bağırsakların kritik hastalıkların "motoru" olarak hareket edebileceğini öne sürmüştür. Bu hipotez, kommensal mikrobiyotadaki aşırı büyüme ve dengesizliğin bağırsak geçirgenliğini artırabileceğini ve bu durumun sistemik sepsis ve ölüme yol açabileceğini belirtmektedir (Clark ve Coopersmith, 2007). Bağırsak epitelyumu, hücreler arası bağlantı kompleksleri tarafından sıkıca bir arada tutulan tek bir sütun hücre tabakasından oluşur; bu kompleksler parahüresel geçirgenliği düzenler. Bu bağlantı kompleksleri sıkı bağlantı (ZO; zonula occludens), adezyon bağlantısı (zonula adherens) ve desmozomdan oluşur. Adezyon bağlantıları sıkı bağlantının altında bulunur ve her ikisi de aktin sitoskeleti ile ilişkili apikal bağlantı komplekslerini oluşturur. Hücreler arası adezyon kuvvet ve hücre içi sinyallemeyle ilgili apikal bağlantı kompleksleri ve aktin filamentleri arasında bir köprü bulunurken, adezyon kuvvet bağlantıları ve desmozomlar hücreler arası etkileşimlerin sürdürülmesi için gerekli adezyon kuvvetlerini sağlar (Saitoh ve ark., 2015). Sıkı bağlantı bariyeri hem boyut hem de yük seçiciliği sergiler ve bütün bir epitelyal tek tabaka boyunca iki ayrı yol sunar, bu yollara 'gözenek' ve 'sızıntı' yolları denir. Gözenek yolu, yüksek kapasiteli,

boyut-seçici ve yük-seçici bir yolu ifade ederken, sızıntı yolu daha sınırlı bir seçiciliğe sahip düşük kapasiteli bir yoldur (Odenwald ve Turner, 2017).

Bazı bakteriyel patojenlerin enterotoksinleri, örneğin enteropatojenik *E. coli*, *C. difficile* ve *C. perfringens*, sıkı bağlantıların bariyer işlevlerini zayıflatabilir (Saitoh ve ark., 2015). İntestinde IL-4, IL-6, IL-13, IL-1 β , TNF- α ve IFN- γ gibi sitokinler üretilir ve bu sitokinler sıkı bağlantıları zayıflatır ve geçirgenliği artırır. Hücre kültürü ve hayvan modeli temelli çalışmalar, IL-10, IL-17 ve TGF- β gibi sitokinlerin bağırsak bariyerini yeniden yapılandırdı. Sitokinlerin bağırsak bariyerini yeniden yapılandırarak geçirgenliği azalttığı gösterilmiştir (Odenwald ve Turner, 2017). Besinler ve besin faktörleri gibi glutamin eksikliği, yağ asidi molekülleri (eikosapentaenoik, dokozaheksaenoik, c-linoleik asitler, kaprik asit ve laurik asit), etanol ve asetaldehit bağırsak geçirgenliğini artırır. Amino asitler glutamin ve triptofan ve diğer beslenme faktörleri arasında kazein peptidi, SCFA'lar, vitamin A ve D ve polifenolik moleküller (kuersetin ve kurkumin) lüminal içeriğin sızmasını kısıtlar (Ulluwishewa ve ark., 2011). Ayrıca, *L. plantarum* DSM 2648 ve *E. coli* Nissle 1917 gibi probiyotiklerin Caco-2 hücrelerinde uygulanması, sıkı bağlantı proteinlerinin ifadesini artırmıştır (Putaalaa ve ark., 2008; Anderson ve ark., 2010).

2.2.2.4 Nörolojik

Bağırsak ve beyin arasındaki iki yönlü iletişime bağırsak-beyin eksenini (GBA) denir. Bağırsak, vücut ile beyin arasında paralel bir şekilde çalışan parasempatik (vagus siniri) ve sempatik (prevertebral ganglionlar) sinir sistemleri ile hipotalamik-hipofiz-böbrek üstü bez aksı (HPA) aracılığıyla beyine bağlanır (Şekil 2) (Rhee ve ark., 2009; Carabotti ve ark., 2015). Bağırsakta yer alan enterik sinir sistemi (ESS), bağırsakta bulunan milyonlarca nöronu içeren ve myenterik ve submukozal pleksus olmak üzere iki tür gangliyondan oluşan "ikinci beyin" olarak kabul edilir. Bağırsak mikrobiyotasının etkinlikleri, (1) nörotransmitterlerin ve nörotrofik faktörlerin üretimi, ifadesi ve dönüşümü, (2) bağırsak bariyerini ve sıkı bağlantı bütünlüğünü koruma, (3) enterik duysal afferentlerin modülasyonu, (4) bakteriyel metabolitlerin üretimi ve (5) mukozal immün düzenleme yoluyla ESS'yi ve merkezi sinir sistemini kontrol edebilir (Rooks ve Garrett, 2016). ESS, asetilkolin, dopamin ve serotonin gibi çoğu CNS'de bulunan nörotransmitterleri algılayabilme yeteneğine sahiptir. Serotonin ve dopaminin %90'ından fazlası bağırsakta üretilir ve bu nörotransmitterlerin beyindeki "savaş veya kaç" mesajının iletiminde, bireyin ruh halini, mutluluğunu ve keyifini kontrol etmede önemli bir rolü

vardır (Sarkar ve ark., 2016). Özellikle SCFA'lar olmak üzere bakteriyel metabolitler, enterochromaffin hücrelerinde triptofan hidroksilaz 1'i uyararak bağırsakta serotonin salınımına neden olmuştur. Serotonin, sempatik sinir sisteminin uyarılmasını sağlayarak hafızayı ve öğrenme sürecini etkileyebilir. Gelişen veriler, işlevsel Gİ bozuklukları sırasında bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozun GBA'yı bozduğunu ve ruh hali bozukluklarına yol açtığını göstermektedir. Deneysel kanıtlar ayrıca probiyotiklerin hipokampus ve serebral kortekste beyinden türetilmiş nörotrofik faktörleri uyarabildiğini ve bilişsel fonksiyonları ile kas onarımı, yenilenme ve farklılaşma gibi süreçleri düzenleyebildiğini öne sürmektedir (Carabotti ve ark., 2015).

2.3 Probiyotikler

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), probiyotikleri "uygun miktarda uygulandığında konak üzerinde sağlık faydaları sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlar (Hill ve ark., 2014). Probiyotikler bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde düzenleyerek konak organizmanın homeostazını etkili bir şekilde iyileştirebilirler (Martinez ve ark., 2015). Antimikrobiyal peptitler salgılayarak, lüminal pH'ı düşürerek ve/veya patojenlerle doğrudan etkileşime geçerek (örneğin, besin ve konum için rekabet ederek ve birlikte kümeler oluşturarak), patojen bakterilerin kolonizasyonunu engelleyebilirler. Bağırsak bağışıklık sisteminin modülasyonunu sağlayarak kolonik inflamasyonu azaltabilir ve mukus üretimini artırarak ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu artırarak gelişmiş bağırsak bariyer fonksiyonu sağlayabilmektedirler (Fong ve ark., 2020; Singh ve Natraj, 2021).

Probiyotik mekanizmalarıyla ilgili bilginin çoğu, in vitro, hayvan, hücre kültürü veya ex vivo insan modelleri kullanılarak yapılan araştırmalara dayanmaktadır. Tüm mekanizmalar insanlarda onaylanmamıştır ve her probiyotik suşta bulunmaz. Birçok mekanizmanın muhtemelen tek bir probiyotikte bir arada ifade edildiği düşünülmektedir, ancak herhangi bir mekanizmanın önemi birçok faktöre bağlı olacaktır. Örneğin, iltihaplı bir bağırsakta, enflamatuar mediatorleri aşağı regüle etme ve epitel bariyer fonksiyonunu artırma yeteneği, intestinal motiliteyi normalleştirmek için kolondaki kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA'lar) ve hidrasyonu artırma yeteneğinden daha önemli olabilir (Ng ve ark., 2010; Del Piano ve ark., 2010; Mujagic ve ark., 2017).

Probiyotik mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik araştırmalar, genellikle in vitro veya hayvan çalışmalarına dayanmaktadır. Bu durum, probiyotikler için özel değildir. Hayvan çalışmaları her zaman insanlara uyarlanamamıştır (Gadir ve ark., 2019).

Örneğin, Crohn hastalığı ve zihinsel sağlık fonksiyonları için probiyotikler önemli örneklerdir (Cabr  ve A. Gassull, 2007; Kelly ve ark., 2017). Dahası, probiyotik suşlar arasında doğuştan farklılıklar vardır. Örneğin, bir probiyotik (bu durumda prebiyotikle birlikte) bebeklerde sepsisi belirgin şekilde azaltırken, farklı bir formülasyon erken doğan bebeklerde nekrotizan enterokoliti önleyememiştir (Costeloe ve ark., 2016; Panigrahi ve ark., 2017).

2.3.1 Hücresel ve humoral bağışıklık fonksiyonlarının düzenlenmesi

Bazı probiyotiklerin fagositoz veya doğal öldürücü hücre aktivitesini artırdığı ve dendritik hücrelerle doğrudan etkileşime girdiği gösterilmiştir. Ayrıca, bazı probiyotiklerin patojenlere karşı geliştirilen savunmayı ve aşı yanıtlarını artırdığı ve antikor salgısını artırdığı da bilinmektedir. TNF gibi anti-enflamatuar sitokin düzeylerini arttırarak, bazı probiyotik suşları kolon kanseri ve kolit gibi hastalıkları hafifletme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Klaenhammer ve ark., 2012; Saltzman ve ark., 2017).

2.3.2 Organik asitlerin üretimi

Lactobacillus ve Bifidobacterium gibi probiyotik türler, karbonhidrat metabolizmasının temel son ürünleri olan laktik asit ve asetik asit üretirler. Bu organik asitler, lüminal pH'ı düşürerek patojenlerin büyümesini engelleyebilirler (Aoudia ve ark., 2016). Ancak, Lactobacillus ve Bifidobacterium türleri butirat üretmezler. Bununla birlikte, diğer kommensal mikrobiyotalarla (örneğin Faecalibacterium) beslenerek bağırsakta butirat ve diğer kısa zincirli yağ asidi (SCFA) düzeyleri artabilir. Bu da kardiyometabolik fenotip dâhil olmak üzere birçok fizyolojik özelliği etkileyebilmektedir (Canfora ve ark., 2015).

2.3.3 Bağırsak mikrobiyotası ile etkileşim

Probiyotik suşlar, bağırsak mikrobiyotasıyla etkileşime geçerek besin rekabeti, antagonizma, karşılıklı beslenme ve mikrobiyota stabilitesini destekleyebilir. Birçok probiyotik suş, şeker metabolizması yoluyla organik asitler üreterek diğer mikroorganizmalara karşı kısmen antagonistik etki gösterir. Ayrıca, bakteriosin adı verilen antimikrobiyal bileşikler üreterek patojenlere karşı etkili olurlar. Bu antimikrobiyal bileşikler, insan idrar yolu ve insanlar ile hayvanların bağırsaklarında bulunan patojenlere karşı etkilidir (Bali ve ark., 2016). Bifidobakteri türleri ise asetat

üretir ve bağırsak mikrobiyotasının diğer üyeleriyle karşılıklı olarak beslenme yapabilirler (Rivière ve ark., 2016). Bazı probiyotik suşlar, örneğin *B. longum* AH1206 ve *B. bifidum* ATCC15696, bebek bağırsaklarında kalıcılık gösterebilir (Maldonado-Gómez ve ark., 2016; Abdulkadir ve ark., 2016), ancak bu durumda bakteriosin üretimi ile ilişkili patojen seviyesindeki azalma test edilmemiştir. Probiyotiklerin *Helicobacter pylori* eradikasyonunu iyileştirme yetenekleri de bazı inhibisyon içerebilir, ancak probiyotiklerin antibiyotiklerin yan etkilerini azaltma konusunda daha güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Fang ve ark., 2019).

2.3.4 Probiyotik-konak etkileşimleri

Probiyotik suşların konak dokularıyla etkileşimi, yüzey katmanı ile ilişkili proteinler (surface layer-associated proteins, mucin-binding proteins, pili, and LPxTG-binding proteins) ve protein olmayan bileşenler (lipoteichoic acid, peptidoglycan, exopolysaccharides) aracılığıyla iletilir (Sanders ve ark., 2018). Bu yapıların bağırsak ve vajinal hücrelere, musine ve bağışıklık veya dendritik hücrelere bağlanmayı etkilediği ve artan transit süreleri ve geliştirilmiş bariyer bütünlüğü ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Sanders ve ark., 2018).

2.3.5 Bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesi

Çoğunlukla hücre hatlarındaki çalışmalar aracılığıyla, birkaç probiyotik *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşunun sıkı bağlantı proteinlerinin ifadesini artırdığı gösterilmiştir (La Fata ve ark., 2018). İnsan bağırsak epitelyal enteroid ve kolonoidleri kullanan bir çalışma, *L. rhamnosus* GG ile ön işlem görmüş hücrelerin IFN γ 'nin neden olduğu sıkı bağlantı zonula occludens 1 ve okludin hasarını tersine çevirdiğini göstermiştir. Probiyotik suşların bariyer fonksiyonunu nasıl iyileştirebileceği konusunda başka bir yol da, mukus salgılayan genlerin ifadesini artırarak epitelyal hücrelere patojen bağlanmasını azaltmaktır. İnflamasyonu azaltmak da, bariyer fonksiyonunu iyileştiren bir faktör olarak kabul edilir (Mack ve ark., 1999; Han ve ark., 2019).

2.3.6 Lokal ve lokal olmayan etkilere sahip küçük moleküllerin üretimi

Farklı etkilere sahip belirli probiyotik suşlar tarafından üretilen küçük moleküller tanımlanmıştır ve bunlar hem konak hem de mikrobiyotası üzerinde etkilidir. Beyin fonksiyonlarını etkileyen oksitosin, gamma-aminobutirik asit, serotonin, triptamin, noradrenalin, dopamin ve asetilkolin gibi nörokimyasalları üretebilmektedirler (Kim ve

ark., 2018). Bir stres sıçan modelinde, *L. helveticus* NS8 beslenmesi plazma kortikosteronu ve adrenokortikotropik hormon düzeylerini düşürdüğü ve hipokampal serotonin ve noradrenalin düzeylerini yeniden düzenlediği bulunmuştur (Liang ve ark., 2015).

2.3.7 Enzim üretimi

Bazı probiyotik suşlar tarafından üretilen β -galaktosidaz ve safra tuzu hidrolazı gibi mikrobiyal enzimler, sırasıyla insanlarda laktoz sindirimini ve kan lipid profillerini iyileştirir. Örneğin, *Streptococcus thermophilus*'un yoğurta bulunması, laktoz intoleransı olan kişilere klinik fayda sağlayabilir. *S. thermophilus*, ince bağırsağa girdiğinde safra tarafından geçirgen hale getirilme eğilimi göstererek laktozu sindirilebilir glukoz ve galaktoza parçalar, bu da laktoz intoleransı semptomlarını hafifletir (Kotz ve ark., 1994; Costabile ve ark., 2017). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un laktoz malabsorpsiyonu semptomlarını hafiflettiği yönünde sağlık beyanında bulunulmasının uygun olduğunu kabul etmiştir (EFSA Panel on Dietetic Products ve Allergies, 2010).

2.4 Prebiyotikler

Prebiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının büyümesini ve aktivitesini teşvik eden, sindirilemeyen besin bileşenleridir. Bağırsak mikrobiyotası için besin kaynağı olarak hizmet ederler ve özellikle probiyotik bakterilerin büyümesini desteklerler. Prebiyotikler bağırsakta fermentasyona uğrarlar ve kısa zincirli yağ asitleri gibi metabolik ürünler üretirler. Mevcut prebiyotikler genellikle karbonhidrat kaynaklıdır, ancak polifenoller ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi diğer maddeler de prebiyotik etkiler gösterebilir (Gibson ve ark., 2017). Örneğin, kakao fraksiyonu gibi polifenoller, bağırsak modelinde bifidobakteri, laktobasil ve bütirat üretimini önemli ölçüde artırdığı gösterilen suya çözünmeyen maddelerdir (Fogliano ve ark., 2011).

Prebiyotiklerin çeşitli faydaları vardır. İlk olarak, bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı dengeye ulaşmasına ve çeşitliliğinin artmasına katkıda bulunurlar. Prebiyotikler ayrıca bağırsak epiteli için enerji kaynağı sağlar ve bağırsak bariyer fonksiyonunu artırarak bağırsak geçirgenliğini azaltabilir. Bağırsakta prebiyotiklerin fermentasyonu sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri, bağırsak hücrelerinin enerji kaynağı olarak kullanılır ve sağlıklı bağırsak hücrelerinin korunmasına yardımcı olur (Flint ve ark., 2012). Prebiyotiklerin sağlık üzerinde bir dizi olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir. Bunlar

arasında bağırsak sağlığının iyileştirilmesi, bağışıklık sistemi fonksiyonunun düzenlenmesi, inflamasyonun azaltılması, sindirim sağlığının desteklenmesi ve metabolik sağlık üzerinde olumlu etkilerin olması sayılabilir. Ayrıca, prebiyotiklerin obezite, diyabet, kalp hastalığı gibi kronik hastalıkların risk faktörlerini azaltmada da potansiyel bir rolü olduğu düşünülmektedir (Ha ve ark., 2014).

2.4.1 Patojenlere karşı savunma

Prebiyotiklerin uygulanmasıyla organik asitlerin üretimi ve faydalı bakterilerin yayılması, lümen pH'ını azaltarak patojenlerin büyümesini inhibe edebilir. Kommensal mikroorganizmaların stabil bir popülasyonunun oluşturulması, invaze eden mikroorganizmalar için besin açısından azalan bir ortam sağlayarak kolonizasyonlarını engelleyebilir. Yaşlı bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda, günlük galakto-oligosakkarit (GOS) tüketiminin 10 hafta boyunca artırılmasının bağışıklık fonksiyonlarını, özellikle fagositoz aktivitesini ve doğal öldürücü hücre aktivitesini artırdığı gözlemlenmiştir (Vulevic ve ark., 2008; Vulevic ve ark., 2015).

2.4.2 Bağışıklık modülasyonu

Tam mekanizmalar açık olmasa da, prebiyotik müdahalenin tip 2 T yardımcı hücre yanıtlarını azaltabileceği ve bu nedenle allerjileri etkileyebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu konuda en güçlü veriler bebekler üzerinde yapılan çalışmalardan gelmektedir. Bir çift-kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada, 259 bebekte bebek formülüne eklenen galakto-oligosakkarit (GOS) ve uzun zincirli frukto-oligosakkarit (FOS) içeren prebiyotiklerin, prebiyotik içermeyen formülle beslenen bebeklere göre atopik dermatit, hırıltı ve ürtiker insidansında %50'den az azalmayla ilişkili olduğu bulunmuştur (Ivakhnenko ve Nyankovskyy, 2013). Henüz tekrarlanmamış bir prospektif, çift-kör, plasebo kontrollü çalışmada ise, atopy riski taşıyan sağlıklı tamamen doğan bebeklerin, 6 ay boyunca prebiyotik destekli hipoalerjenik formülle beslendiklerinde, beslenmeden 5 yıl sonra allerjilerin prevalansında beş katından fazla azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (Arslanoglu ve ark., 2012).

2.4.3 Mineral emiliminin artması

Minerallerin çoğu, ince bağırsakta aktif taşıma mekanizmalarıyla emilir. Bu nedenle, prebiyotiklerin fermantasyonu sonucunda oluşan kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar) lümen pH'sını azaltarak kalsiyumun çözünürlüğünü artırabilir. Bu pH düşüşü,

pasif alım için kalsiyumun çözünürlüğünü artıran bir sürücü kuvveti sağlamaktadır (Goss ve ark., 2007).

2.4.4 Bağırsak fonksiyonlarının iyileştirilmesi

Bağırsak fonksiyonlarında görülen iyileşmeler genellikle diyet lifi tüketiminin basit dışkı hacmi artışıyla ilişkilendirilir. Ancak, prebiyotiklerin fermantasyonu sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), bağırsak hormonlarını düzenleyerek bağırsakların yerel motor cevaplarını modüle edebilmektedirler (Hurst ve ark., 2014). Ayrıca, prebiyotik karbonhidratların nem tutma ve su bağlama kapasiteleri, dışkıların yumuşamasını sağlayarak geçişini kolaylaştırıcı etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Lamsal, 2012).

2.4.5 Metabolik etkileri

Prebiyotikler bağırsakta SCFA'ların üretilmesine ve bariyer fonksiyonunun geliştirilmesine yol açar. GOS ile yapılan prebiyotik müdahalelerin in vivo olarak bariyer fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir. Bozulmuş bariyer fonksiyonu, bağırsaktan sistemik dolaşıma bakteriyel lipopolisakkarit(LPS) gibi inflamatuvar mediatörlerin geçişine izin verebilir. Bu durum metabolik endotoksemi olarak adlandırılır ve diyabet ve obezite gibi durumların nedenlerinden biri olarak öne sürülmüştür (Krumbeck ve ark., 2018). Genel olarak prebiyotik müdahalenin insanlarda glukoz homeostazi, inflamasyon ve kan lipid profilinde olumlu etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Obezite hastalarında inflamatuvar belirteçleri iyileştirdiği gösterilen GOS ve inulin ile yapılan müdahaleler bulunmuştur (Liu ve ark., 2017a).

Prebiyotiklerin ve bariyer fonksiyonunun inflamasyon üzerindeki etkileriyle ilgili birçok araştırmada fermantasyon ürünleri gibi SCFA'ların önceden tartışılan mekanizmalar aracılığıyla faydalı etkilere sahip olabileceğidir. Ancak, GOS'un, en azından in vitro olarak, bağırsak epitelyal hücre hatlarında sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu doğrudan uyarabildiği ve transepitelyal akışı azaltabildiği gösterilmiştir (Akbari ve ark., 2017). SCFA'lar ayrıca iştahı düzenlemek için PYY ve GLP-1 gibi anoreksijenik hormonların üretimine yol açabilmektedir (Chambers ve ark., 2015).

2.4.6 Gelecek yaklaşımlar

Probiyotikler ve prebiyotikler, sindirim sistemi mikrobiyotasının modülasyonunda önemli bir rol oynar. Her iki müdahale de, konakçıda faydalı

mikroorganizmaların topluluğunu artırarak ve bu mikroorganizmaların büyümesini ve metabolik ürünlerini teşvik ederek etki gösterir. Bu etkiler sistemik olarak iletilerek, örneğin kardiyovasküler sistem, ürogenital sistem, cilt ve beyin gibi farklı sistemlerde etkiler gösterebilir.

Probiyotikler genellikle tipik *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. gibi cinslerden gelir, ancak diğer mikroorganizmalara ve hatta daha fazla maya türüne kadar genişleyebilir. Bu mikroorganizmalar yeni probiyotik adayları veya prebiyotik kullanımı için hedef olabilirler. Bu alanda mikrobiyal kompozisyonun ölçümlerinin hassasiyeti, doğruluğu ve tekrarlanabilirliğinin artırılması önemlidir, böylece yanıltıcı yorumlardan kaçınılabilir.

Ayrıca, geliştirilmiş değerlendirmeler, probiyotik ve prebiyotik ürünlerin daha geniş bir yelpazesinin ortaya çıkmasını sağlayabilir. Örneğin, propiyonat ve butirat gibi faydalı bağırsak mikrobiyal metabolitleri, geleneksel probiyotikler tarafından üretilmez. Bu nedenle, bu metabolitleri üretebilen diğer mikroorganizmaların tanımlanması, geleneksel probiyotiklerin ötesinde yeni fırsatlar sunar.

Mikrobiyal virülansı azaltan yapışmayı önleyici moleküller ve karbonhidratlar da önemli bir gelişme olabilir. Bu faktörler, seçici olarak kullanılmayan substratlar olmaları nedeniyle mevcut prebiyotik yaklaşımlara yardımcı olabilirler. Bu şekilde, probiyotik ve prebiyotik kullanımının daha etkili ve özelleştirilmiş hale getirilmesi sağlanabilir.

Sonuç olarak, probiyotikler ve prebiyotikler, sindirim sistemi mikrobiyotasının modülasyonunda önemli araçlardır ve gelecekte daha geniş bir kullanım potansiyeline sahip olabilirler. Ancak, bu alanda daha fazla araştırma ve gelişme gerekmektedir.

Bağırsak mikrobiyomunun hastalıklar üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için daha iyi tasarlanmış randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu tür çalışmalar, bireyleri rastgele müdahale gruplarına atayarak yanlılıkları azaltır ve tedavi veya müdahalelerin gerçek etkilerini belirlemeye yardımcı olur.

Yüksek hızlı dizileme teknolojisi ve metabolomik analiz gibi gelişmeler, mikrobiyom analizinin daha erişilebilir ve yaygın hale gelmesini sağlamıştır. Bu sayede, hastalıklar arasındaki mikrobiyom farklılıkları daha iyi anlaşılacaktır. Bununla birlikte, bağırsak ekosisteminin işlevsel ekolojisine daha fazla farkındalık ve sistemik sağlık üzerindeki etkilerinin daha iyi açıklanması için daha fazla araştırma ve netlik gerekmektedir.

Mikrobiyota ve konak transkriptomik çalışmaları da önemlidir, ancak maliyetli ve zaman alıcı olabilir. Bu tür çalışmalar için biyoinformatik desteğinin yanı sıra uzmanlık gerekmektedir.

Sonuç olarak, probiyotik ve prebiyotik rejimlerin uygulanması, insan sağlığını iyileştirmek ve hastalık riskini azaltmak için önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak, daha fazla araştırma ve iyi tasarlanmış klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu şekilde, hastaların yönetimine katkı sağlanabilir ve daha etkili tedavi ve nleme stratejileri geliştirilebilir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Hayvan Çalışmaları

Bu çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanları (24 aylık) model organizma olarak kullanıldı. Dört grup oluşturuldu: kontrol grubu (n = 7) ve aralıklı açlık (n = 7) uygulanan grup; 30 gün boyunca probiyotikler (n = 7) uygulanan grup; ve aralıklı açlık uygulaması sırasında probiyotik takviyeler (n = 7) alan grup. Aralıklı açlık gruplarındaki sıçanlar, günde 18 saat boyunca yiyeceğe erişimi kısıtlandı ve yiyeceğe 6 saat (sabah 9'dan öğleden sonra 3'e kadar) erişimlerine izin verildi. Su erişimine herhangi bir kısıtlama getirilmedi. Hayvanlara standart bir kemirgen diyeti (Mattson ve ark., 2017) serbestçe verildi. Uygulama süresince vücut ağırlığı izlendi. Probiyotik takviyesi, günde 3 mL (1×10^8 CFU) dozunda oral gavaje yöntemiyle verildi (Zheng ve ark., 2018). Çalışmada SCD Probiotics şirketi tarafından pazarlanan 11 farklı probiyotik içeren bir probiyotik ürün (Essential Probiotics XI - 500 ml H.S. Kodu: 2206.00.7000) kullanıldı. Bu probiyotikler arasında *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Streptococcus thermophilus* türleri bulunuyordu. Uygulamanın bitiminden bir gün sonra, deneysel ve kontrol gruplarındaki hayvanlar hafifçe eterle sersemletildi ve kurban edildi. Bağırsak dokusu çekum bölgeleri içerikleriyle birlikte kuru buzla şoklanarak alındı ve -80°C derin dondurucuda çalışma zamanına kadar saklandı. Tüm hayvanlar standart hayvan bakımı altında tutuldu. Çalışmamız, Saki Yenilli Deneysel Hayvan Üretim ve Uygulama Laboratuvarı Etik Kurulu'nun onayıyla (onay numarası: 2021/05) gerçekleştirildi (Villeda ve ark., 2014; Ceylani ve Teker, 2022).

3.2 DNA İzolasyonu

Cecum içeriğinden genomik DNA, "Quick DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit, Cat. No. D6010" kullanılarak izole edildi. İzole edilen DNA'nın miktarı ve saflığı Qubit ile florometrik olarak belirlendi (Ceylani ve Teker, 2022).

3.3 16S rRNA V3-V4 Bölgesinin Amplifikasyonu

Tür belirleme için 16S rRNA geninin V3-V4 bölgeleri, universal 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) ve 805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC) primer

dizileri kullanılarak SimpliAmp Thermal Cyclers (Ceylani ve Teker, 2022) ile amplifiye edildi.

3.4 Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme

Illumina'nın "Nextera XT DNA Library Prep Kit, Cat. No.: FC-131-1096" kiti kullanılarak 16S rRNA V3-V4 amplicon ürünleri için kütüphane hazırlandı ve kütüphaneye indeksleme yapmak için "TG Nextera XT Index Kit v2 Set A (96 Indices, 384 Samples), Cat. No.: TG-131-2001" kullanıldı. PCR saflaştırması için Beckman Coulter'ın "AMPure XP beads" kullanıldı. Veriler, Illumina'nın Miseq teknolojisi kullanılarak eşleştirilmiş uçlu (PE) 2x150 bazlı okumalar olarak dizilenmiştir. Her bir örneğin en az 30.000 okuması olmalıdır (Ceylani ve Teker, 2022).

3.5 16S V3-V4 Bölgelerinin PCR Koşulları

PCR koşulları: 95°C 10 dakika, ilk denatürasyon (HS enzimi kullanılacak), 35 döngü: 95°C 45 saniye - denatürasyon, 50-55°C 45 saniye - eşleşme, 72°C 60 saniye - uzama, 72°C 3 dakika - final uzaması, sıcaklık 4°C'ye düşürülerek PCR tamamlandı (Ceylani ve Teker, 2022).

3.6 Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme

Illumina'nın "Nextera XT DNA Library Prep Kit, Cat. No: FC-131-1096" kiti kullanılarak 16S rRNA V3-V4 amplicon ürünleri için kütüphane hazırlandı ve kütüphaneye indeksleme yapmak için "TG Nextera XT Index Kit v2 Set A (96 Indices, 384 Samples), Cat. No: TG-131-2001" kullanıldı. PCR saflaştırması için Beckman Coulter'ın "AMPure XP beads" kullanıldı. Veriler, Illumina'nın Miseq teknolojisi kullanılarak eşleştirilmiş uçlu (PE) 2x150 bazlı okumalar olarak dizilenmiştir. Her bir örneğin en az 30.000 okuması olmalıdır (Ceylani ve Teker, 2022).

3.7 Ham Veriye (FastQ) Yönelik Biyoinformatik Analiz

Ham dizi verileri (FastQ), mikrobiyal çeşitlilik tahmininin doğruluğunu artırmak ve düşük kaliteli okumalar ve kontamine okumalar gibi dizileme artefaktlarını filtrelemek için kalite kontrollerine tabi tutuldu ve ihtiyaç duyulması durumunda FastQC v0.10.1 ile kesim yapıldı. Dizi verileri, Kraken Metagenomic sistemini kullanarak OTU gruplarına kümeleme yapıldı (Yang ve ark., 2015). Isı haritaları, GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad

Software, ABD) yazılımıyla oluşturuldu (Wood ve Salzberg, 2014). Tüm örnek ham okumaları, BioProject ID PRJNA887213 altında NCBI'ye yatırılmıştır.

3.8 Shannon ve Simpson Çeşitlilik İndeksleri

Alfa çeşitlilik indeksleri tür düzeyinde belirlendi. Shannon Eşitlik değeri 1.5 ile 3.5 arasında değişir. Bu sayı ne kadar büyükse, dağılım o kadar eşit olur. Simpson indeksleri, OTU' ların bolluğu ve eşitliği kullanılarak hesaplandı. Simpson Çeşitlilik İndeksi (1-D), 0 ile 1 arasında bir sayıdır, 1 tam bir eşitlik anlamına gelir (Angelidis ve ark., 2020).

3.9 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, ortalama \pm ortalama standart hatası (SEM) olarak verildi. Alpha çeşitlilikleri ve F/B oranı arasındaki karşılaştırmalar kontrol (Cnt), aralıklı oruc (Fst), SCD Probiyotik (Prb) ve aralıklı oruc sırasında SCD Probiyotik takviye grubu (FstPrb) arasında tek yönlü Anova ve Bağımsız T-test (tek taraflı p değeri) kullanıldı. Karşılaştırma GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, ABD) yazılımında yapıldı. Anlamlılık derecesi * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ ve **** $p < 0.0001$ olarak belirtildi. Bakteriyel familyalar, cinsler ve türler için metagenomik sayıların ısı haritası analizi kontrol (Cnt), aralıklı oruc (Fst), SCD Probiyotik (Prb) ve aralıklı oruc sırasında SCD Probiyotik takviye grubu (FstPrb) için GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, ABD) yazılımında gerçekleştirildi.

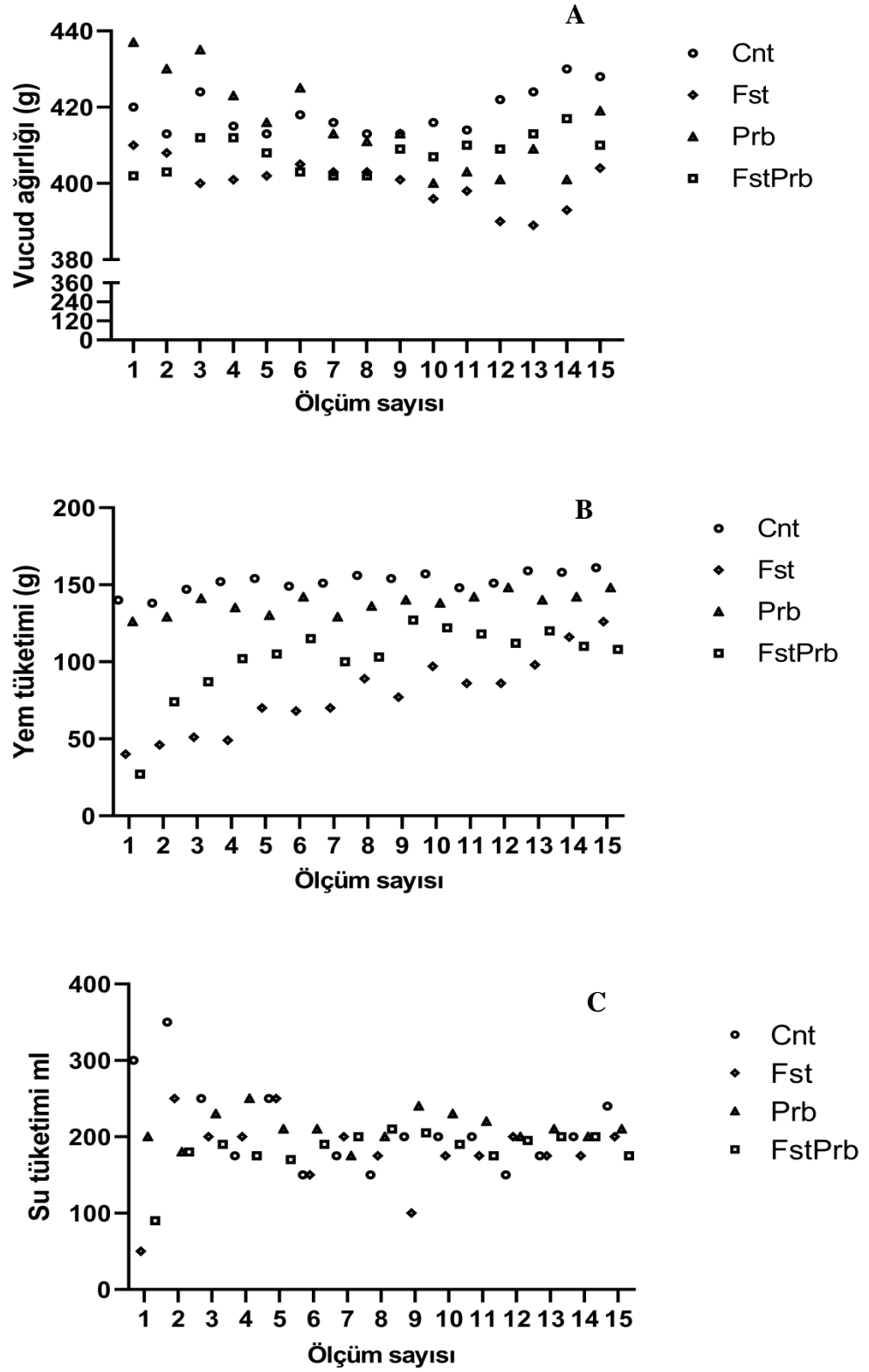
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Hayvanların Vücut Ağırlığı, Su ve Yem Tüketimi

Bu çalışmada elde edilen bulgular, aralıklı oruç tutma (Fst), SCD Probiotics takviyesi (Prb) ve her iki müdahalenin birleşik uygulamasının (FstPrb) vücut ağırlığı, yem ve su tüketimi üzerindeki potansiyel etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Yapılan ANOVA sonuçları, vücut ağırlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur ($p = 0.002$) (1A). Bu farklılıklar daha detaylı incelendiğinde, kontrol grubu (Cnt) ile aralıklı oruç tutan grup (Fst) arasında en belirgin farklılık gözlemlenmiş ($p = 0.0001$), bu durum IF uygulamasının vücut ağırlığı üzerindeki etkili rolünü vurgulamaktadır. Öte yandan, kontrol grubu ile yalnızca SCD Probiyotik takviyesi alan grup (Prb) arasında bu denli belirgin bir fark saptanmamış ($p = 0.4298$), bu da Prb'nin vücut ağırlığı üzerinde bağımsız bir etkisinin olmadığını düşündürülebilir. Ancak, kontrol grubu ile hem aralıklı oruç hem de SCD Probiotics uygulanan grup (FstPrb) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiş ($p = 0.0236$), bu da aralıklı oruç ve SCD Probiotics birlikte uygulamasının sinerjik bir etkiye sahip olabileceğine işaret edebilir.

Yem tüketimi açısından yapılan ANOVA analizi, genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($p < 0.0001$) (1B). Bu farklılıklar, özellikle kontrol grubu ile aralıklı oruç tutan grup (Cnt vs. Fst, $p < 0.0001$) ve FstPrb uygulanan grup (Cnt vs. FstPrb, $p < 0.0001$) arasında dikkate değer düzeydedir. Bu sonuçlar, aralıklı oruç ve her iki uygulamanın birlikte değerlendirilmesinin yem tüketimini azaltmada etkili olduğuna dair kanıtlar sunmaktadır. Fst ile Prb karşılaştırmasında ($p < 0.0001$) ve Fst ile FstPrb ($p = 0.0050$) karşılaştırmasında da anlamlı farklılıklar bulunmuş, bu da aralıklı orucun yem tüketimi üzerindeki etkisinin SCD Probiotics ile kombinasyon halinde daha da güçlendirilebileceğini göstermiştir. Ancak, SCD Probiotics tek başına yem tüketimi üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı (Prb vs. FstPrb, $p < 0.0001$) görülmüştür.

Su tüketimi açısından, ANOVA sonuçları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını belirtmiştir ($p = 1132$) (1C). Bu, farklı diyet müdahalelerinin su tüketimine etki etme potansiyelinin olmadığını veya bu çalışmanın ölçüm yöntemlerinin su tüketimi farklılıklarını yakalamak için yeterince hassas olmadığını düşündürülebilir.



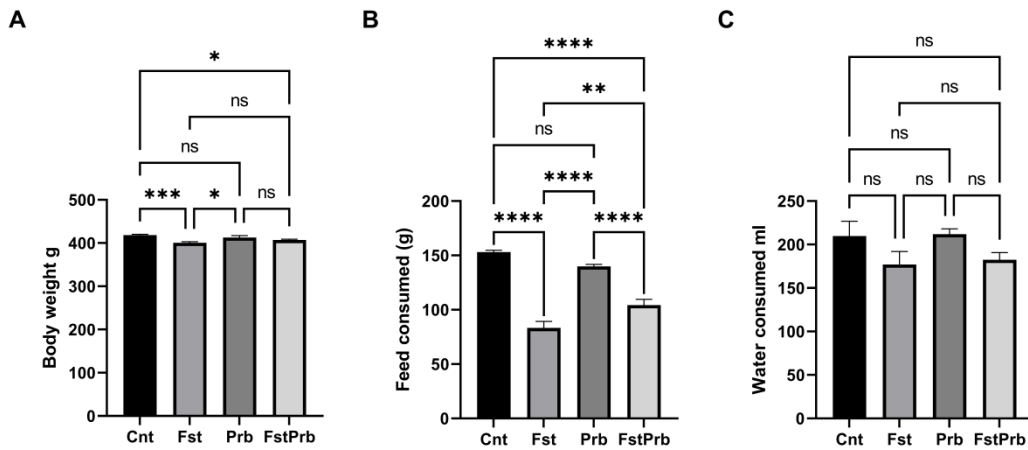
Şekil 4.1. Aralıklı oruç, SCD probiyotik takviyesi ve kombine uygulamanın a) Vücut ağırlığı b) Gıda tüketimi c) Su tüketimi üzerindeki etkileri. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup)

Aralıklı orucun en önemli etkilerinden biri, doğal ve sağlıklı bir şekilde kilo kaybıdır (Templeman ve ark., 2020). Fst gruplarında önemli bir kilo kaybı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, probiyotik bakterilerin kilo üzerinde etkileri olduğu bilinmesine rağmen (Cerdó ve ark., 2019), bir ayda IA kadar derin bir etkiye sahip olması beklenmez. FstPrb grubunda kilo kaybının daha az olması dikkat çekicidir. Aralıklı oruc sırasında probiyotik takviyenin hayvanların beslenmesinde bir şekilde rol oynadığı görülmektedir (Jung ve ark., 2013). Kontrol grubuna göre Fst grubu ile Prb grubu arasındaki kilo kaybı için daha düşük anlamlılık değeri, probiyotik kullanımının kilo alımı üzerinde dengeleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Sağlıklı bir mikrobiyotanın tam olarak ne olduğunu ifade edebilecek kesin bir tanım olmasa da, tür çeşitliliği açısından zengin olması gereken kabul edilen durumlardan biridir (Lloyd-Price ve ark., 2016). Bu nedenle, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonundaki tür çeşitliliğini ve bu türlerin varlık oranını ifade eden alfa çeşitlilik indeksleri olan Shannon ve Simpson değerleri incelenir (Mattson ve ark., 2017). Bu amaçla, elde edilen amplifikasyonlu dizi verileri üzerinde değerlendirme yapılır (Ceylani ve Teker, 2022). Bağırsak mikrobiyotasını etkileyen birçok farklı parametre olmasına rağmen, tür çeşitliliğinin bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerinin genellikle beslenme alışkanlıklarına bağlı olduğu bildirilmektedir (Quigley, 2017). Aralıklı açlık uygulamasının tür çeşitliliğini önemli ölçüde artırdığı dikkat çekicidir. Yakın zamanda tamamladığımız bir çalışmada da benzer bir etki gözlemlendi ve AO uygulamasının düşündüğümüzden daha derin bir etkiye sahip olabileceğini gösterdi (Ceylani ve Teker, 2022). Probiyotikler de bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliğini artırır (Wang ve ark., 2021). FstPrb grubundaki tür çeşitliliğinin Fst grubuna göre daha az belirgin olduğu göz önüne alındığında, probiyotik bakterilerin bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliğindeki rolü ortaya çıkmaktadır. Benzer şekilde, aralıklı orucun uygulamasının Simpson değeri üzerinde daha etkili olduğu, ancak aynı zamanda probiyotik takviyenin bu etkiyi farklı bir yönde dengelediği görülmektedir.

4.2 Alfa Çeşitlilik ve F/B Oranı

Tüm durumlarda, Fst ve Prb ve FstPrb, GM anova'da Shannon değerinde önemli artışlara neden oldu ($p < 0.0001$). Gruplar arasındaki Shannon değeri farkı, Cnt vs. Fst ($p < 0.0001$), Cnt vs. Prb ($p = 0.0069$), Cnt vs. FstPrb ($p = 0.0034$), Fst vs. Prb ($p < 0.0001$), Fst vs. FstPrb ($p < 0.0001$) ve Prb vs. FstPrb ($p = 0.9382$) olarak gözlemlendi (Şekil 2A). Simpson değeri açısından da anlamlı bir farklılık bulundu (anova, $p = 0.0103$). Gruplar

arasındaki farklar, Cnt vs. Fst ($p = 0.0092$), Cnt vs. Prb ($p = 0.0325$), Cnt vs. FstPrb ($p = 0.0457$), Fst vs. Prb ($p = 0.7857$), Fst vs. FstPrb ($p = 0.6526$) ve Prb vs. FstPrb ($p = 0.0369$) şeklindedir (Şekil 2B). Anova analizi, F/B oranında önemli bir değişiklik olduğunu gösterdi ($p < 0.0001$). Gruplar arasındaki farklar, Cnt vs. Fst ($p = 0.0001$), Cnt vs. Prb ($p < 0.0001$), Cnt vs. FstPrb ($p = 0.1315$), Fst vs. Prb ($p < 0.0001$), Fst vs. FstPrb ($p < 0.0012$) ve Prb vs. FstPrb ($p < 0.0001$) olarak belirlendi (Şekil 2C).



Şekil 4.2. Aralıklı oruç, SCD Probiotics takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiotics takviyesinin yaşlı sığanların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri a) Shannon (H) ve b) Simpson (1-D) indeksleri ve c) Firmicutes ile Bacteroidetes oranı (F/B oranı). Cnt. (kontrol), Fst (aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup)

Bağırsak mikrobiotasındaki bakterilerin en önemli katkılarından biri, kuşkusuz butirat, propiyonat ve asetat gibi kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA'lar) üretimidir (Nagpal ve ark., 2018). Özellikle SCFA'lar, bağırsak epitel hücreleri için ana enerji kaynağını oluşturdukları için, bağırsak geçirgenliğinin korunmasında doğrudan rol oynadıkları için önemlidir. Bu durum, kronik inflamasyon ve yaşlanmanın nedenlerinden biri olarak kabul edilir (Kim ve Jazwinski, 2018). Firmicutes ve Bacteroidetes suşları, bağırsak mikrobiotasının %90'ından fazlasını oluştururken, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria ve Verrucomicrobia suşları nispeten daha küçük miktarlarda bulunur. Bağırsak Firmicutes ve Bacteroidetes tarafından üretilen butirat, propiyonat ve asetat, enterohormonal hücreler tarafından ifade edilen G proteinine bağlı reseptörler (GPCR'ler) üzerinden çeşitli yollarla ev sahibi metabolizmasını düzenler. Hem asetat hem de butirat, pankreas üzerinde etkisi olan glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) ve peptit YY (PYY) salınımını uyarır (GLP-1 tarafından indüklenen insülin biosentezi ve PYY

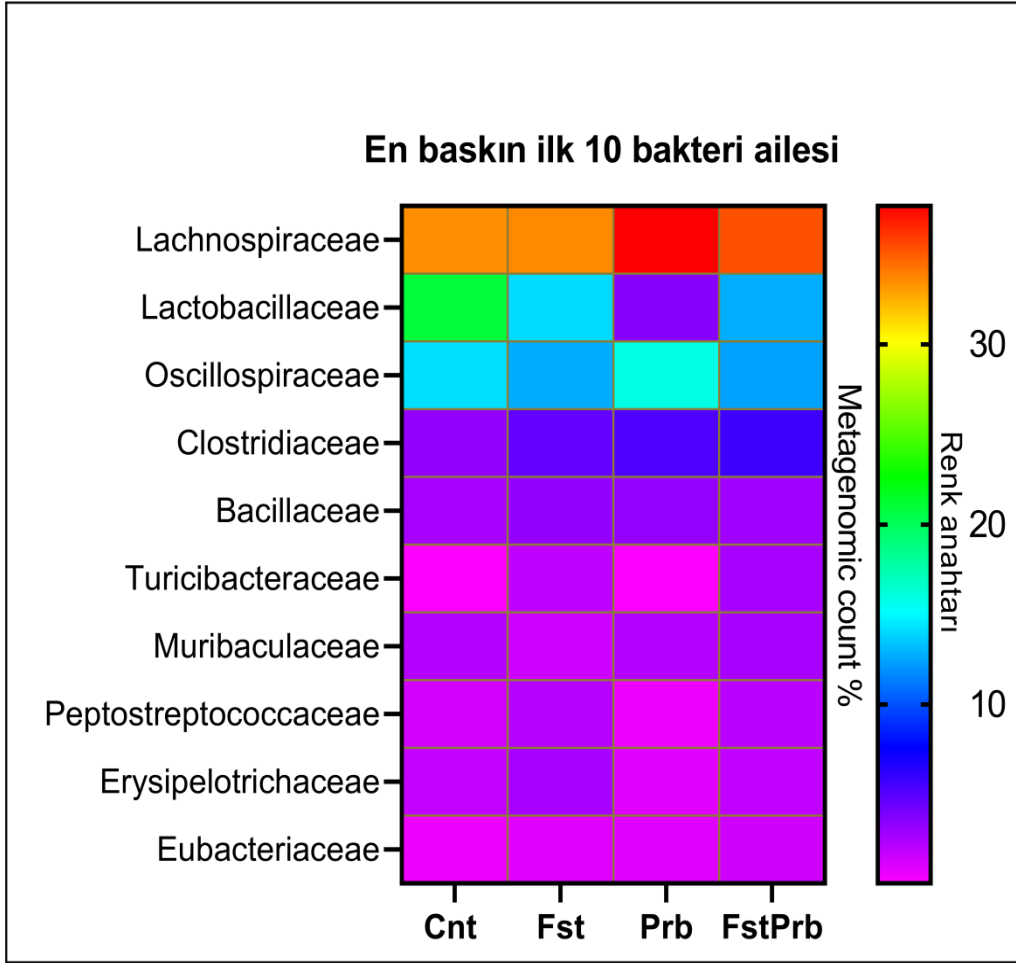
tarafından indüklenen tokluk) (Fan ve Pedersen, 2021). Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) oranı, mikrobiyota ile sağlık durumu arasındaki ilişkiyi ve çeşitli klinik bozukluklarla ilişkilendirilmesini göstermek için sıkça kullanılmaktadır (Magne ve ark., 2020). Yüksek F/B oranları disbiyotik mikrobiyota ile ilişkilidir ve bebeklikten yetişkinliğe kadar yükseldiği gösterilmiştir (Indiani ve ark., 2018). Aralıklı açlık uygulamasının F/B oranında dengeleyici bir rol oynadığı bilinmektedir (Ceylani ve Teker, 2022). Bu çalışmada, AO'nun F/B oranı üzerindeki etkisi net bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte, Prb grubunda Bacteroidetes şubesinde bir artış ve Firmicutes şubesinde bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma ve artışın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu gibi görünmesine rağmen, SCD probiyotik içeriğindeki probiyotik türlerin büyük çoğunluğunun Firmicutes şubesine dâhil olması farklı bir beklenti oluşturmaktadır. Probiyotik bakteri takviyesinde karşılaşılan en büyük sorunlardan biri, probiyotiklerin hedefledikleri etkiyi gösterdikleri gastrointestinal sistem bölgesine ulaşana kadar hayatta kalmalarının gerekliliğidir. Mide asidi, safra ve enzimlerin ince bağırsak salgıları gibi faktörler ve pH değişiklikleri, yüksek derecede yarar elde etmenin önünde engel oluşturabilir (Cheng ve ark., 2021). SCD probiyotik içeriğindeki tüm türlerin bağırsak sistemine ulaşabilmiş olması ve aynı oranlarda tutunabilmesi mümkün olmayabilir. Probiyotik kullanımının FstPrb grubunda aynı etkiyi göstermemesi, aralıklı oruc uygulamasının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki güçlü etkisini göstermektedir.

4.3 En Baskın Bakteriyel Aileler, Cinsler ve Türler

Aralıklı açlık uygulaması, probiyotik kullanımı ve aralıklı açlık sırasında probiyotik takviyelerin, çoğunlukla ifade edilen bakteriyel familyaların önemli ölçüde yoğunlaşmasına neden olduğu görülmektedir.

En büyük etki probiyotik takviyesiyle ortaya çıkmıştır. Probiyotik grubunda Spirochaetaceae ve Christensenellaceae familyasına ait bireylerin oranı özellikle artmıştır. Ayrıca, kontrol grubunda %1.21 oranında bulunan Prevotellaceae familyasına ait bireylerin probiyotik kullanımıyla %4.80 oranında daha baskın hale geldiği dikkat çekicidir. Tüm gruplarda ikinci en baskın familya olan Lactobacillaceae'ye ait bireyler, probiyotik kullanımı nedeniyle azalmıştır. FstPrb grubunda, kontrol grubundan farklı olarak, probiyotik takviye ile baskın hale gelen Eubacteriaceae familyasına ait bireyler ve sadece aralıklı oruç uygulamasıyla baskın hale gelen Turicibacteraceae ve Muribaculaceae familyalarına ait bireyler bulunmaktadır. FstPrb grubunda en yaygın

olarak bulunan ilk on bakteriyel familyanın diğer gruplarla karşılaştırması **Şekil 4.3**'de gösterilmiştir.



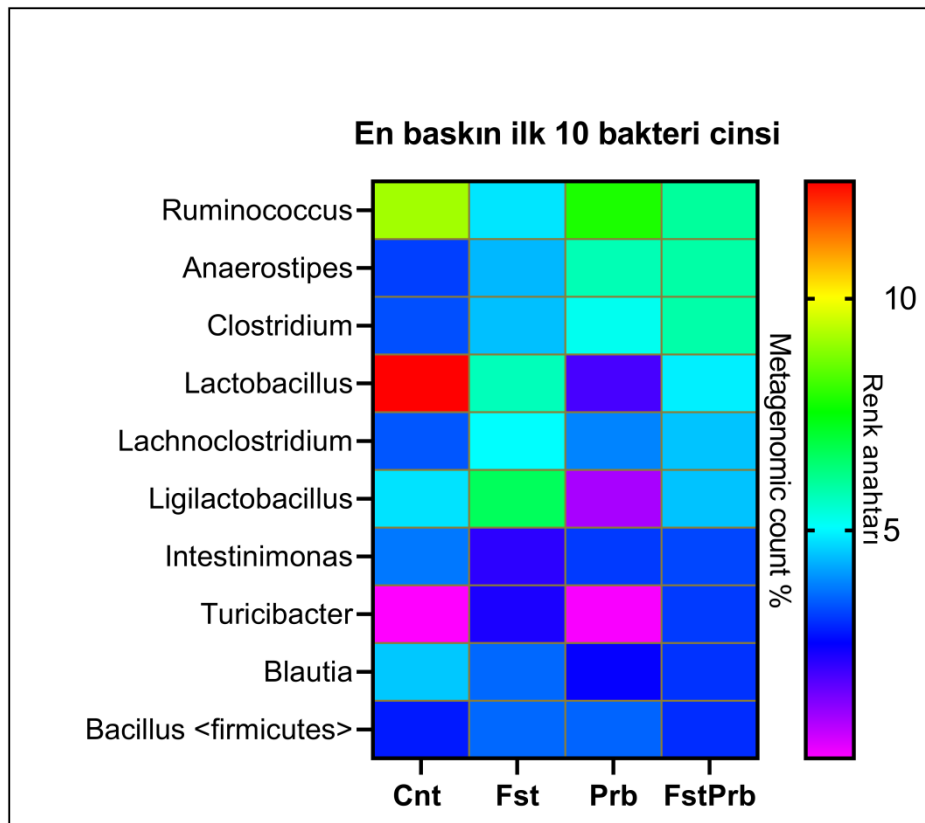
Şekil 4.3. Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri aileleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 10 bakteri ailesinin bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt. (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup)

Çizelge 4.1. En baskın ilk 10 bakteri ailesi ve cinsi

En baskın ilk 10 bakteri ailesi								
Cnt		%	Fst	%	Prb	%	FstPrb	%
1	Lachnospiraceae	33,43%	Lachnospiraceae	33,58%	Lachnospiraceae	37,65%	Lachnospiraceae	35,27%
2	Lactobacillaceae	20,87%	Lactobacillaceae	14,02%	Oscillospiraceae	15,86%	Lactobacillaceae	12,69%
3	Oscillospiraceae	14,14%	Oscillospiraceae	12,64%	Clostridiaceae	5,20%	Oscillospiraceae	12,34%
4	Clostridiaceae	3,23%	Clostridiaceae	4,64%	Prevotellaceae	4,80%	Clostridiaceae	5,78%
5	Bacillaceae	2,63%	Bacillaceae	3,25%	Spirochaetaceae	4,54%	Bacillaceae	2,85%
6	Muribaculaceae	2,25%	Erysipelotrichaceae	2,66%	Lactobacillaceae	3,63%	Turicibacteraceae	2,66%
7	Erysipelotrichaceae	1,79%	Peptostreptococcaceae	2,16%	Bacillaceae	3,17%	Muribaculaceae	2,61%
8	Coriobacteriaceae	1,49%	Turicibacteraceae	1,94%	Muribaculaceae	2,24%	Peptostreptococcaceae	2,07%
9	Peptostreptococcaceae	1,40%	Prevotellaceae	1,88%	Eubacteriaceae	0,97%	Erysipelotrichaceae	1,89%
10	Prevotellaceae	1,21%	Muribaculaceae	1,50%	Christensenellaceae	0,96%	Eubacteriaceae	1,43%

En baskın ilk 10 bakteri cinsi								
Cnt		%	Fst	%	Prb	%	FstPrb	%
1	Lactobacillus	12,52%	Ligilactobacillus	6,65%	Ruminococcus	7,80%	Ruminococcus	6,02%
2	Ruminococcus	9,12%	Lactobacillus	5,72%	Anaerostipes	5,77%	Anaerostipes	5,92%
3	Ligilactobacillus	4,78%	Lachnoclostridium	5,06%	Treponema	5,12%	Clostridium	5,89%
4	Blautia	4,51%	Ruminococcus	4,81%	Clostridium	5,20%	Lactobacillus	4,90%
5	Intestinimonas	3,73%	Clostridium	4,44%	Roseburia	3,96%	Lachnoclostridium	4,48%
6	Lachnoclostridium	3,40%	Anaerostipes	4,36%	Lachnoclostridium	3,85%	Ligilactobacillus	4,47%
7	Clostridium	3,33%	Bacillus	3,59%	Prevotella	3,50%	Intestinimonas	3,25%
8	Anaerostipes	3,18%	Blautia	3,58%	Bacillus	3,54%	Turicibacter	3,13%
9	Coprococcus	3,07%	Coprococcus	2,44%	Intestinimonas	3,13%	Blautia	3,05%
10	Bacillus	2,81%	Turicibacter	2,30%	Blautia	2,51%	Bacillus	2,99%

Benzer şekilde üç grup içinde baskın cinslerin yaygınlığı önemli ölçüde değişmiş ve yeniden şekillenmiştir (**Çizelge 4.1**). Probiyotik kullanımıyla en yaygın olan ilk on cins büyük ölçüde değişiklik göstermiştir. Treponema, Roseburia ve Prevotella en baskın on cins arasında yer almaktadır. Ruminococcus ve Anaerostipes, probiyotik kullanımıyla FstPrb grubunda iki en baskın cins olarak devam etmektedir. Sadece AO ile birlikte en baskın on cins arasında bulunan Turicibacter suşları, FstPrb grubunda daha yüksek oranda görülmektedir. Sadece probiyotik takviyesi, aralıklı açlık sırasında takviyenin etkisini gösterememektedir. FstPrb grubunda en yaygın olarak bulunan ilk on bakteriyel cinsin diğer gruplarla karşılaştırması ısı haritası **Şekil 4.4**' de gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri cinsleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 10 bakteri cinsinin bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç), Prb (SCD Probiyotikleri) ve FstPrb (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup)

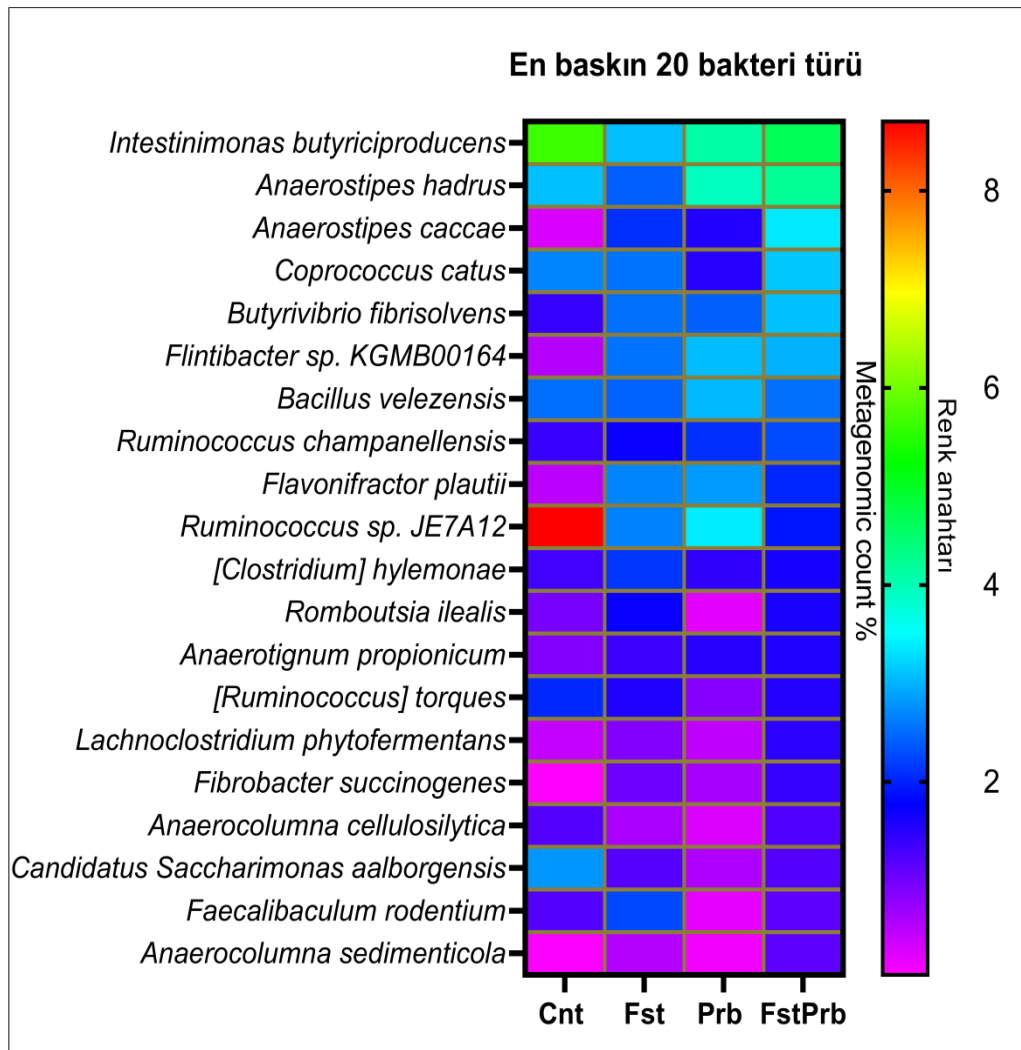
4.4 Tüm Gruplarda En Baskın Bakteriye Türler Yeniden Şekillendi

Aralıklı açlık uygulaması, probiyotik takviyesi ve aralıklı açlık sırasında probiyotik takviyenin tür çeşitliliği üzerinde en büyük etkisi görülmüştür (**Çizelge 4.1**). En büyük değişiklik probiyotik bakteri kullanımından kaynaklanmaktadır. *Treponema pedis*, *Roseburia intestinalis*, *Treponema succinifaciens*, *Massilistercora timonensis*, *Ruminococcus bicirculans*, *Oscillibacter valericigenes* ve *Herbinix luporum* türleri, probiyotik kullanımıyla mikrobiyotada baskın hale gelmiştir. Benzer şekilde, en yaygın olarak bulunan ilk yirmi türün çeşitlilik ve yok olma oranı da önemli ölçüde değişmiştir. *Lachnoclostridium phocaeense*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acutalibacter muris* ve *Methylomusa anaerophila* türleri yalnızca Fst grubunda yaygın olarak bulunabilir. Prb grubundaki probiyotik takviyenin etkisi, FstPrb grubunda aralıklı oruç tarafından engellenmemiştir. *Lachnoclostridium phytofermentans*, *Fibrobacter succinogenes*, *Anaerocolumna cellulolytica*, *Faecalibaculum rodentium* ve *Anaerocolumna sedimenticola* türleri yalnızca FstPrb grubunda baskın olarak ifade edilmiştir.

Aralıklı oruç ile baskın hale gelen *Faecalibaculum rodentium* ve *Romboutsia ilealis* türleri, FstPrb grubunda da baskın olmaya devam etmiştir. Öte yandan, *Flavonifractor plautii*, *Flintibacter sp.* KGMB00164, *Anaerostipes caccae* ve *Anaerotigignum propionicum* türleri, kontrol grubu dışındaki gruplarda farklı oranlarda baskın hale gelmiştir. Aralıklı oruç uygulamasının probiyotik takviyenin tür çeşitliliği ve yaygınlığı üzerinde büyük ölçüde baskılayıcı etkisi olduğu gözlemlenmiştir. FstPrb grubunda en yaygın olarak bulunan ilk yirmi bakteri suşunun diğer gruplarla karşılaştırması ısı haritası **Şekil 4.5'** de gösterilmektedir.

Bağırsak mikrobiyotası son derece dinamik bir yapıya sahiptir (Ji ve ark., 2020). Koşullar değiştikçe hızla yeniden şekillenebilir ve hastalık ve sağlık açısından önemli bir rol oynayabilir. Ayrıca, yaşla birlikte yeniden şekillendiği bilinmektedir (Kim ve Jazwinski, 2018). Tür düzeyindeki değişiklikler diğer taksonlara da yansır. Aralıklı oruç uygulaması ve probiyotik takviyesinin bağırsak mikrobiyotasındaki baskın türlere farklı şekilde etki ettiği görülmektedir. Yaşlanma ile tür çeşitliliğinde bir azalma olduğu bilinmektedir (Mangiola ve ark., 2018). Yaşlılıkta bağırsak mikrobiyotasındaki baskın hale gelen türlerde tercih edilen diyet gibi diğer faktörler de rol oynar. Bununla birlikte, deneysel çalışmada beslenme ve çevresel faktörlerin aynı tutulduğu için, uygulamalar sonucunda bağırsak mikrobiyotasında baskın hale gelen türler dikkat çekmektedir. Tercih

edilen probiyotik türlerin tipi, sayısı ve kombinasyonu önemli bir detay olsa da, birçok farklı deneysel çalışmada probiyotik takviyesinin genel olarak bağırsak mikrobiyotası üzerinde dengeleyici bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2021). Diğer yandan, devam eden araştırmalar açlığın ve mikrobiyota arasında güçlü bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Aralıklı oruç uygulamalarının sonucunda bağırsak mikrobiyotasında bulunan türler ve yaygınlıkları büyük ölçüde değişmektedir (Liu ve ark., 2020b; Ceylani ve Teker, 2022).



Şekil 4.5. Aralıklı oruç, SCD Probiyotik takviyesi ve aralıklı oruç sırasında SCD Probiyotik takviyesinin yaşlı ratlarda bağırsak mikrobiyotasındaki en baskın bakteri türleri üzerindeki etkisi. Isı haritası iki uygulamanın birlikte değerlendirildiği durum sonrasında meydana gelen en baskın ilk 20 bakteri türünün bulunma oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Cnt (kontrol), Fst (Aralıklı oruç ve SCD Probiyotik takviyesinin birlikte uygulandığı grup)

Çizelge 4.2.En baskın ilk 20 bakteri türü

En baskın ilk 20 bakteri türü							
Cnt	%	Fst	%	Prb	%	FstPrb	%
1						<i>Intestinimonas</i>	
						<i>butyriciproducens</i>	4,65%
2						<i>Anaerostipes hadrus</i>	3,60%
						<i>Intestinimonas</i>	
						<i>butyriciproducens</i>	3,07%
3						<i>Anaerostipes caccae</i>	3,35%
						<i>Ruminococcus sp. JE7A12</i>	2,46%
4						<i>Flintibacter sp.</i>	
						<i>Coprococcus catus</i>	3,13%
						<i>KGMB00164</i>	2,22%
5						<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	3,08%
						<i>Bacillus velezensis</i>	2,16%
6						<i>Flintibacter sp.</i>	
						<i>KGMB00164</i>	2,97%
7						<i>Bacillus velezensis</i>	2,53%
						<i>Flavonifractor plautii</i>	2,04%
8						<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	1,76%
						<i>Ruminococcus</i>	
9						<i>champanellensis</i>	2,27%
						<i>Treponema pedis</i>	1,72%
10						<i>Ruminococcus</i>	
						<i>champanellensis</i>	1,53%
11						<i>Flavonifractor plautii</i>	2,03%
						<i>Ruminococcus sp.</i>	
12						<i>JE7A12</i>	1,91%
						<i>Clostridium hylemonae</i>	1,61%
13						<i>Roseburia intestinalis</i>	1,10%
						<i>Anaerostipes caccae</i>	1,10%
14						<i>Anaerostipes caccae</i>	2,08%
						<i>Lachnoclostridium</i>	
15						<i>phocaeense</i>	1,99%
						<i>propionicum</i>	1,09%
16						<i>Romboutsia ilealis</i>	1,60%
						<i>Anaerostipes caccae</i>	1,72%
17						<i>propionicum</i>	1,56%
						<i>Coprococcus catus</i>	1,08%
18						<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	1,40%
						<i>Ruminococcus</i>	
19						<i>champanellensis</i>	1,71%
						<i>Treponema succinifaciens</i>	1,06%
20						<i>Ruminococcus torques</i>	1,53%
						<i>Lachnoclostridium</i>	
21						<i>phytofermentans</i>	1,47%
						<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,64%
22						<i>Clostridium hylemonae</i>	1,03%

Çizelge 4.2. En baskın ilk 20 bakteri türü (Devam)

En baskın ilk 20 bakteri türü

	Cnt	%	Fst	%	Prb	%	FstPrb	%
15	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,40%	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,64%	<i>Clostridium hylemonae</i>	1,03%	<i>Lachnoclostridium phytofermentans</i>	1,47%
16	<i>Ruminococcus champanellensis</i>	1,39%	<i>Ruminococcus torques</i>	1,57%	<i>Massilistercora timonensis</i>	1,00%	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	1,41%
17	<i>Christensenella minuta</i>	1,35%	<i>Acutalibacter muris</i>	1,40%	<i>Ruminococcus bicirculans</i>	0,89%	<i>Anaerocolumna cellulositytica</i>	1,23%
18	<i>Clostridium hylemonae</i>	1,33%	<i>Anaerotignum propionicum</i>	1,37%	<i>Oscillibacter valericigenes</i>	0,88%	<i>Candidatus Saccharimonas aalborgensis</i>	1,20%
19	<i>Clostridium scindens</i>	1,22%	<i>Methylomusa anaerophila</i>	1,35%	<i>Christensenella minuta</i>	0,86%	<i>Faecalibaculum rodentium</i>	1,14%
20	<i>Faecalibaculum rodentium</i>	1,20%	<i>Candidatus Saccharimonas aalborgensis</i>	1,19%	<i>Herbinix luporum</i>	0,85%	<i>Anaerocolumna sedimenticola</i>	1,13%

Bu çalışmada, aralıklı oruc uygulamasının probiyotik kullanımından daha etkili olduğu bağırsak mikrobiyotası üzerinde açıkça görülmektedir. Ayrıca, probiyotik takviyesinin AO uygulamasıyla aynı etkiyi göstermediği ve aralıklı oruc uygulamasının bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliği ve bu türlerin varlık oranı üzerinde her durumda daha etkili olduğu ortaya çıkmaktadır. Probiyotik takviyesi ve AO uygulamasının tek başına birçok avantajı olsa da, aralıklı oruc uygulaması sırasında probiyotik takviyelerin tercih edilmesi, bağırsak mikrobiyotasının sağlığı açısından daha avantajlı görünmektedir. Bu bulgular, AO ve probiyotiklerin bağırsak sağlığı üzerindeki etkileşimlerini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu da ortaya koymaktadır. Bu tür araştırmalar, AO ve probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini daha ayrıntılı olarak inceleyerek, bu iki müdahalenin birleşik kullanımının potansiyel faydalarını ve en iyi uygulama yöntemlerini belirleyebilir.

Özellikle, AO' nun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri, vücudun doğal ritimlerini ve sindirim süreçlerini düzenleyerek mikrobiyal çeşitliliği ve dengesini iyileştirebilir. Bu, bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı bir kompozisyonunu teşvik ederek, sindirim sağlığı ve genel bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler yaratabilir. Probiyotik takviyeleri ise, özellikle belirli bağırsak sorunları olan bireyler için faydalı olabilir ve AO'nun sağladığı faydaları destekleyebilir. Bu çalışmanın sonuçları, AO ve probiyotik takviyelerinin bağırsak sağlığı üzerindeki etkileşimlerine dair önemli bilgiler sunmakta ve bu iki müdahalenin birleşik kullanımının potansiyel faydalarını ortaya koymaktadır. Bu bilgiler, sağlık profesyonelleri ve bireyler için, bağırsak sağlığını iyileştirmek ve korumak için stratejiler geliştirmede değerli olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuç

Bu tez çalışması, aralıklı oruç (AO) rejimi ve SCD Probiotiklerinin kombinasyonunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırma, 24 aylık erkek Sprague-Dawley sıçanları üzerinde gerçekleştirilmiş olup, bu sıçanlar 18 saatlik günlük yiyecek kısıtlaması içeren bir aralıklı oruç rejimine tabi tutulmuş ve 30 gün boyunca her gün 3 mL (1×10^8 CFU) SCD Probiotikleri ile takviye edilmiştir. Deneyin ardından, hem deney hem de kontrol gruplarından alınan çekum içeriklerinin metagenomik analizi yapılmıştır.

Araştırmanın sonuçları, SCD Probiotiklerinin ve AO rejiminin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini göstermiştir. Özellikle, Shannon ve Simpson alfa çeşitlilik indeksleri, yani bir topluluktaki tür çeşitliliğini ölçen değerler, artış göstermiştir. Bu artış, SCD Probiotiklerinin kullanımı, AO uygulaması ve AO sırasında SCD Probiotiklerinin takviye edilmesiyle üç farklı durumda gözlemlenmiştir. Firmicutes ve Bacteroidetes (F/B) oranlarındaki değişimler, bağırsak sağlığı açısından önemli bir gösterge olarak değerlendirilmiştir. F/B oranı, hem IF uygulaması hem de SCD Probiotikleri takviyesiyle iyileşmiş, ancak AO sırasında SCD Probiotikleri takviye edildiğinde oran daha dengeli hale gelmiştir. Ayrıca, baskın bakteriyel ailelerin, cinslerin ve türlerin tüm üç durumda da önemli ölçüde değiştiği gözlemlenmiştir.

5.2 Öneriler

5.2.1 Diyet ve probiyotik takviyesi entegrasyonu: Bu çalışmanın sonuçları, diyet rejimleri ve probiyotik takviyelerinin entegrasyonunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir. Özellikle, aralıklı oruç rejimi ve probiyotik takviyesinin kombinasyonunun, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğini ve dengesini iyileştirmede potansiyel bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, diyetisyenler ve sağlık profesyonelleri, bireysel sağlık ihtiyaçlarına göre özelleştirilmiş diyet ve probiyotik takviye programları geliştirmeyi düşünebilirler.

5.2.2 Uzun süreli etkilerin araştırılması: Bu çalışma, 30 günlük bir süre boyunca gerçekleştirilmiştir. Ancak, AO ve probiyotik takviyesinin uzun süreli etkileri üzerine daha fazla araştırma yapılması önemlidir. Uzun vadeli çalışmalar, bu tür diyet ve takviye rejimlerinin sürdürülebilirliği ve potansiyel sağlık yararları hakkında daha fazla bilgi sağlayabilir.

5.2.3 Farklı yaş grupları ve cinsiyetler üzerinde araştırmalar: Bu alışma, belirli bir yaş grubundaki erkek sıçanlar üzerinde yapılmıştır. Farklı yaş gruplarındaki ve cinsiyetlerdeki insanlar üzerinde benzer çalışmalar yapılması, elde edilen bulguların genel geçerliği açısından önemlidir. Bu, diyet ve probiyotik takviyelerinin farklı demografik gruplar üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

5.2.4 Mikrobiyota eşitliliği ve sağlık üzerindeki etkileri: Bu alışma, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliğindeki artışın sağlık üzerinde olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir. Ancak, bu çeşitliliğin spesifik sağlık sonuçları üzerindeki etkilerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Özellikle, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve metabolik hastalıklar, bağışıklık sistemi fonksiyonları ve hatta psikolojik sağlık gibi çeşitli sağlık durumları arasındaki ilişkilerin incelenmesi önemlidir.

5.2.5 Moleküler mekanizmaların anlaşılması: SCD Probiotiklerinin ve AO rejiminin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin moleküler mekanizmalarını anlamak, bu etkileşimlerin temelini oluşturacaktır. Bu, probiyotiklerin ve diyet rejimlerinin bağırsak sağlığı üzerindeki etkilerini optimize etmek için potansiyel stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, aralıklı oruç ve probiyotik takviyelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini anlamada önemli bir adım teşkil etmektedir. Elde edilen bulgular, diyet ve probiyotik takviyelerinin entegrasyonunun bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir. Bu alanda yapılacak daha fazla araştırma, bu bulguları destekleyecek ve sağlık profesyonellerine bağırsak sağlığını iyileştirmek için yeni stratejiler sunacaktır.

KAYNAKLAR

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K.M., Ganu, R., Petrosino, J., Versalovic, J. 2014. The placenta harbors a unique microbiome,*Sci Transl Med*, 6(237), 237ra65.
- Aagaard, K., Riehle, K., Ma, J., Segata, N., Mistretta, T.-A., Coarfa, C., Raza, S., Rosenbaum, S., Van den Veyver, I., Milosavljevic, A. 2012. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy,*PLoS one*, 7(6), e36466.
- Abdulkadir, B., Nelson, A., Skeath, T., Marrs, E.C., Perry, J.D., Cummings, S.P., Embleton, N.D., Berrington, J.E., Stewart, C.J. 2016. Routine use of probiotics in preterm infants: longitudinal impact on the microbiome and metabolome,*Neonatology*, 109(4), 239-247.
- Akbari, P., Fink-Gremmels, J., Willems, R.H., Difilippo, E., Schols, H.A., Schoterman, M.H., Garssen, J., Braber, S. 2017. Characterizing microbiota-independent effects of oligosaccharides on intestinal epithelial cells: Insight into the role of structure and size: Structure–activity relationships of non-digestible oligosaccharides,*European journal of nutrition*, 56, 1919-1930.
- Akira, S., Uematsu, S., Takeuchi, O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity,*Cell*, 124(4), 783-801.
- Aleman, F.D.D., Valenzano, D.R. 2019. Microbiome evolution during host aging,*PLoS Pathog*, 15(7), e1007727.
- Alhamdan, B., Garcia-Alvarez, A., Alzahrnai, A., Karanxha, J., Stretchberry, D., Contrera, K., Utria, A., Cheskin, L. 2016. Alternate-day versus daily energy restriction diets: which is more effective for weight loss? A systematic review and meta-analysis,*Obesity science & practice*, 2(3), 293-302.
- Ali, I., Liu, K., Long, D., Faisal, S., Hilal, M.G., Ali, I., Huang, X., Long, R. 2021. Ramadan Fasting Leads to Shifts in Human Gut Microbiota Structured by Dietary Composition, *Front Microbiol*, 12, 642999.
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis Jr, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., Williams, C.L. 2009. Health benefits of dietary fiber,*Nutrition reviews*, 67(4), 188-205.
- Anderson, R.C., Cookson, A.L., McNabb, W.C., Kelly, W.J., Roy, N.C. 2010. *Lactobacillus plantarum* DSM 2648 is a potential probiotic that enhances intestinal barrier function,*FEMS Microbiology Letters*, 309(2), 184-192.
- Angelidis, A.S., Kalamaki, M.S., Pexara, A.S., Papageorgiou, D.K. 2020. Investigation of *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during artisanal kefir fermentation,*LWT*, 134, 109956.
- Aoudia, N., Rieu, A., Briandet, R., Deschamps, J., Chluba, J., Jego, G., Garrido, C., Guzzo, J. 2016. Biofilms of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus*

fermentum: Effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties, *Food Microbiology*, 53, 51-59.

- Arslanoglu, S., Moro, G., Boehm, G., Wienz, F., Stahl, B., Bertino, E. 2012. Early Neutral Prebiotic Oligosaccharide Supplementation reduces the incidence of some allergic manifestations in the first 5 years of life, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 26, 49-59.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., Fernandes, G.R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome, *Nature*, 473(7346), 174-180.
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., Zhong, H. 2015a. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life, *Cell host & microbe*, 17(5), 690-703.
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., Zhong, H., Khan, M.T., Zhang, J., Li, J., Xiao, L., Al-Aama, J., Zhang, D., Lee, Y.S., Kotowska, D., Colding, C., Tremaroli, V., Yin, Y., Bergman, S., Xu, X., Madsen, L., Kristiansen, K., Dahlgren, J., Wang, J. 2015b. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life, *Cell Host Microbe*, 17(5), 690-703.
- Bali, V., Panesar, P.S., Bera, M.B., Kennedy, J.F. 2016. Bacteriocins: recent trends and potential applications, *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(5), 817-834.
- Bana, B., Cabreiro, F. 2019. The Microbiome and Aging, *Annu Rev Genet*, 53, 239-261.
- Barnosky, A.R., Hoddy, K.K., Unterman, T.G., Varady, K.A. 2014. Intermittent fasting vs daily calorie restriction for type 2 diabetes prevention: a review of human findings, *Translational Research*, 164(4), 302-311.
- Benítez-Páez, A., Del Pulgar, E.M.G., Kjølbaek, L., Brahe, L.K., Astrup, A., Larsen, L., Sanz, Y. 2016. Impact of dietary fiber and fat on gut microbiota re-modeling and metabolic health, *Trends in Food Science & Technology*, 57, 201-212.
- Bercik, P., Collins, S.M., Verdu, E.F. 2012. Microbes and the gut-brain axis, *Neurogastroenterol Motil*, 24(5), 405-13.
- Bergman, E. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species, *Physiological reviews*, 70(2), 567-590.
- Bhutani, S., Klempel, M.C., Kroeger, C.M., Trepanowski, J.F., Varady, K.A. 2013. Alternate day fasting and endurance exercise combine to reduce body weight and favorably alter plasma lipids in obese humans, *Obesity*, 21(7), 1370-1379.
- Bianconi, E., Piovesan, A., Facchin, F., Beraudi, A., Casadei, R., Frabetti, F., Vitale, L., Pelleri, M.C., Tassani, S., Piva, F., Perez-Amodio, S., Strippoli, P., Canaider, S.

2013. An estimation of the number of cells in the human body, *Ann Hum Biol*, 40(6), 463-71.
- Bokulich, N.A., Chung, J., Battaglia, T., Henderson, N., Jay, M., Li, H., A, D.L., Wu, F., Perez-Perez, G.I., Chen, Y., Schweizer, W., Zheng, X., Contreras, M., Dominguez-Bello, M.G., Blaser, M.J. 2016. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life, *Sci Transl Med*, 8(343), 343ra82.
- Boneca, I.G., Dussurget, O., Cabanes, D., Nahori, M.-A., Sousa, S., Lecuit, M., Psyllinakis, E., Bouriotis, V., Hugot, J.-P., Giovannini, M. 2007. A critical role for peptidoglycan N-deacetylation in *Listeria* evasion from the host innate immune system, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(3), 997-1002.
- Bruun, J.M., Helge, J.W., Richelsen, B., Stallknecht, B. 2006. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 290(5), E961-E967.
- Burcelin, R., Serino, M., Chabo, C., Blasco-Baque, V., Amar, J. 2011. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective, *Acta Diabetol*, 48(4), 257-273.
- Cabr e, E., A. Gassull, M. 2007. Probiotics for preventing relapse or recurrence in Crohn's disease involving the ileum: are there reasons for failure?, *Journal of Crohn's and Colitis*, 1(1), 47-52.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., Blaak, E.E. 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity, *Nature Reviews Endocrinology*, 11(10), 577-591.
- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M.A., Severi, C. 2015. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems, *Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 28(2), 203.
- Cash, H.L., Whitham, C.V., Behrendt, C.L., Hooper, L.V. 2006. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin, *Science*, 313(5790), 1126-1130.
- Catenacci, V.A., Pan, Z., Ostendorf, D., Brannon, S., Gozansky, W.S., Mattson, M.P., Martin, B., MacLean, P.S., Melanson, E.L., Troy Donahoo, W. 2016. A randomized pilot study comparing zero-calorie alternate-day fasting to daily caloric restriction in adults with obesity, *Obesity*, 24(9), 1874-1883.
- Celli, J.P., Turner, B.S., Afdhal, N.H., Keates, S., Ghiran, I., Kelly, C.P., Ewoldt, R.H., McKinley, G.H., So, P., Erramilli, S. 2009. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14321-14326.
- Cerd o, T., Garc a-Santos, J.A., G. Berm dez, M., Campoy, C. 2019. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity, *Nutrients*, 11(3), 635.

- Ceylani, T., Teker, H.T. 2022. The effect of young blood plasma administration on gut microbiota in middle-aged rats,*Arch Microbiol*, 204(9), 541.
- Chamaillard, M., Hashimoto, M., Horie, Y., Masumoto, J., Qiu, S., Saab, L., Ogura, Y., Kawasaki, A., Fukase, K., Kusumoto, S. 2003. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid,*Nature immunology*, 4(7), 702-707.
- Chambers, E.S., Morrison, D.J., Frost, G. 2015. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms?,*Proceedings of the Nutrition Society*, 74(3), 328-336.
- Chapnik, N., Genzer, Y., Froy, O. 2017. Relationship between FGF21 and UCP1 levels under time-restricted feeding and high-fat diet,*The Journal of nutritional biochemistry*, 40, 116-121.
- Chausse, B., Vieira-Lara, M.A., Sanchez, A.B., Medeiros, M.H., Kowaltowski, A.J. 2015. Intermittent fasting results in tissue-specific changes in bioenergetics and redox state, *PLoS One*, 10(3), e0120413.
- Cheng, Y., Song, W., Tian, H., Zhang, K., Li, B., Du, Z., Zhang, W., Wang, J., Wang, J., Zhu, L. 2021. The effects of high-density polyethylene and polypropylene microplastics on the soil and earthworm *Metaphire guillelmi* gut microbiota,*Chemosphere*, 267, 129219.
- Cignarella, F., Cantoni, C., Ghezzi, L., Salter, A., Dorsett, Y., Chen, L., Phillips, D., Weinstock, G.M., Fontana, L., Cross, A.H., Zhou, Y., Piccio, L. 2018. Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota,*Cell Metab*, 27(6), 1222-1235.e6.
- Claesson, M.J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., Marchesi, J.R., Falush, D., Dinan, T., Fitzgerald, G., Stanton, C., van Sinderen, D., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., Henry, C., O'Mahony, D., Fitzgerald, A.P., Shanahan, F., Twomey, C., Hill, C., Ross, R.P., O'Toole, P.W. 2011. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly,*Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 Suppl 1(Suppl 1), 4586-91.
- Clark, J.A., Coopersmith, C.M. 2007. Intestinal crosstalk—a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness,*Shock* (Augusta, Ga.), 28(4), 384.
- Clayton, D.J., Burrell, K., Mynott, G., Creese, M., Skidmore, N., Stensel, D.J., James, L.J. 2016. Effect of 24-h severe energy restriction on appetite regulation and ad libitum energy intake in lean men and women,*The American Journal of Clinical Nutrition*, 104(6), 1545-1553.
- Collado, M.C., Rautava, S., Aakko, J., Isolauri, E., Salminen, S. 2016. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid,*Sci Rep*, 6, 23129.

- Costabile, A., Buttarazzi, I., Kolida, S., Quercia, S., Baldini, J., Swann, J.R., Brigidi, P., Gibson, G.R. 2017. An in vivo assessment of the cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 in normal to mildly hypercholesterolaemic adults, *PloS one*, 12(12), e0187964.
- Costeloe, K., Hardy, P., Juszczak, E., Wilks, M., Millar, M.R. 2016. Bifidobacterium breve BBG-001 in very preterm infants: a randomised controlled phase 3 trial, *The Lancet*, 387(10019), 649-660.
- De Cabo, R., Mattson, M.P. 2019. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease, *N Engl J Med*, 381(26), 2541-2551.
- Del Piano, M., Carmagnola, S., Anderloni, A., Andorno, S., Ballarè, M., Balzarini, M., Montino, F., Orsello, M., Pagliarulo, M., Sartori, M. 2010. The use of probiotics in healthy volunteers with evacuation disorders and hard stools: a double-blind, randomized, placebo-controlled study, *Journal of clinical gastroenterology*, 44, S30-S34.
- Derrien, M., Belzer, C., de Vos, W.M. 2017. Akkermansia muciniphila and its role in regulating host functions, *Microbial pathogenesis*, 106, 171-181.
- Divoux, A., Tordjman, J., Lacasa, D., Veyrie, N., Hugol, D., Aissat, A., Basdevant, A., Guerre-Millo, M., Poitou, C., Zucker, J.-D. 2010. Fibrosis in human adipose tissue: composition, distribution, and link with lipid metabolism and fat mass loss, *Diabetes*, 59(11), 2817-2825.
- 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*, 107(26), 11971-11975.
- Donohoe, D.R., Garge, N., Zhang, X., Sun, W., O'Connell, T.M., Bunger, M.K., Bultman, S.J. 2011. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon, *Cell metabolism*, 13(5), 517-526.
- Duncan, S.H., Belenguer, A., Holtrop, G., Johnstone, A.M., Flint, H.J., Lobley, G.E. 2007. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces, *Applied and environmental microbiology*, 73(4), 1073-1078.
- Edelstein, S.L., Barrett-Connor, E.L., Wingard, D.L., Cohn, B.A. 1992. Increased meal frequency associated with decreased cholesterol concentrations; Rancho Bernardo, CA, 1984-1987, *Am J Clin Nutr*, 55(3), 664-9.
- EFSA Panel on Dietetic Products, N., Allergies. 2010. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion (ID 1143, 2976) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006, *EFSA Journal*, 8(10), 1763.

- Fan, Y., Pedersen, O. 2021. Gut microbiota in human metabolic health and disease, *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 55-71.
- Fang, H.-R., Zhang, G.-Q., Cheng, J.-Y., Li, Z.-Y. 2019. Efficacy of Lactobacillus-supplemented triple therapy for Helicobacter pylori infection in children: a meta-analysis of randomized controlled trials, *European Journal of Pediatrics*, 178, 7-16.
- Farage, M.A., Miller, K.W., Sobel, J.D. 2010. Dynamics of the vaginal ecosystem—hormonal influences, *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 3, IDRT. S3903.
- Ferrario, C., Taverniti, V., Milani, C., Fiore, W., Laureati, M., De Noni, I., Stuknyte, M., Chouaia, B., Riso, P., Guglielmetti, S. 2014. Modulation of fecal Clostridiales bacteria and butyrate by probiotic intervention with Lactobacillus paracasei DG varies among healthy adults, *J Nutr*, 144(11), 1787-96.
- Flint, H.J., Scott, K.P., Duncan, S.H., Louis, P., Forano, E. 2012. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut, *Gut microbes*, 3(4), 289-306.
- Fogliano, V., Corollaro, M.L., Vitaglione, P., Napolitano, A., Ferracane, R., Travaglia, F., Arlorio, M., Costabile, A., Klinder, A., Gibson, G. 2011. In vitro bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols present in the water-insoluble cocoa fraction, *Molecular nutrition & food research*, 55(S1), S44-S55.
- Fong, F.L.Y., Lam, K.Y., San Lau, C., Ho, K.H., Kan, Y.H., Poon, M.Y., El-Nezami, H., Sze, E.T.P. 2020. Reduction in biogenic amines in douchi fermented by probiotic bacteria, *Plos one*, 15(3), e0230916.
- Foster, J.A., Lyte, M., Meyer, E., Cryan, J.F. 2016. Gut Microbiota and Brain Function: An Evolving Field in Neuroscience, *Int J Neuropsychopharmacol*, 19(5).
- Fothergill, E., Guo, J., Howard, L., Kerns, J.C., Knuth, N.D., Brychta, R., Chen, K.Y., Skarulis, M.C., Walter, M., Walter, P.J. 2016. Persistent metabolic adaptation 6 years after “The Biggest Loser” competition, *Obesity*, 24(8), 1612-1619.
- Franceschi, C., Garagnani, P., Vitale, G., Capri, M., Salvioli, S. 2017. Inflammaging and ‘Garb-aging’, *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 28(3), 199-212.
- Gadir, A.A., Dhir, R., Reid, G. 2019. Probiotics: Reiterating what they are and what they are not, *Frontiers in Microbiology*, 10(MAR).
- Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics, *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491-502.

- Goss, S.L., Lemons, K.A., Kerstetter, J.E., Bogner, R.H. 2007. Determination of calcium salt solubility with changes in pH and PCO₂, simulating varying gastrointestinal environments,*Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(11), 1485-1492.
- Grajower, M.M., Horne, B.D. 2019. Clinical management of intermittent fasting in patients with diabetes mellitus,*Nutrients*, 11(4), 873.
- Green, C.L., Lamming, D.W., Fontana, L. 2022. Molecular mechanisms of dietary restriction promoting health and longevity,*Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(1), 56-73.
- Guo, Z., Liu, X.M., Zhang, Q.X., Shen, Z., Tian, F.W., Zhang, H., Sun, Z.H., Zhang, H.P., Chen, W. 2011. Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: a meta-analysis of randomised controlled trials,*Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21(11), 844-50.
- Ha, C.W., Lam, Y.Y., Holmes, A.J. 2014. Mechanistic links between gut microbial community dynamics, microbial functions and metabolic health,*World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(44), 16498.
- Han, B., Sivaramakrishnan, P., Lin, C.-C.J., Neve, I.A., He, J., Tay, L.W.R., Sowa, J.N., Sizovs, A., Du, G., Wang, J. 2017. Microbial genetic composition tunes host longevity, *Cell*, 169(7), 1249-1262. e13.
- Han, X., Lee, A., Huang, S., Gao, J., Spence, J.R., Owyang, C. 2019. Lactobacillus rhamnosus GG prevents epithelial barrier dysfunction induced by interferon-gamma and fecal supernatants from irritable bowel syndrome patients in human intestinal enteroids and colonoids,*Gut Microbes*, 10(1), 59-76.
- Harris, L., Hamilton, S., Azevedo, L.B., Olajide, J., De Brún, C., Waller, G., Whittaker, V., Sharp, T., Lean, M., Hankey, C. 2018. Intermittent fasting interventions for treatment of overweight and obesity in adults: a systematic review and meta-analysis,*JBI Evidence Synthesis*, 16(2), 507-547.
- Harvie, M., Wright, C., Pegington, M., McMullan, D., Mitchell, E., Martin, B., Cutler, R.G., Evans, G., Whiteside, S., Maudsley, S. 2013. The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women,*British Journal of Nutrition*, 110(8), 1534-1547.
- Heilbronn, L.K., Ravussin, E. 2005. Calorie restriction extends life span—but which calories?,*PLoS medicine*, 2(8), e231.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S. 2014. Activity of cecropin P1 and FA-LL-37 against urogenital microflora,*Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506.

- Hoddy, K.K., Marlatt, K.L., Çetinkaya, H., Ravussin, E. 2020. Intermittent fasting and metabolic health: from religious fast to time-restricted feeding, *Obesity*, 28, S29-S37.
- Hooper, L.V., Midtvedt, T., Gordon, J.I. 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine, *Annual review of nutrition*, 22(1), 283-307.
- Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., Spiegelman, B.M. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance, *The Journal of clinical investigation*, 95(5), 2409-2415.
- Hubbard, T.D., Murray, I.A., Bisson, W.H., Lahoti, T.S., Gowda, K., Amin, S.G., Patterson, A.D., Perdew, G.H. 2015. Adaptation of the human aryl hydrocarbon receptor to sense microbiota-derived indoles, *Scientific reports*, 5(1), 12689.
- Hurst, N.R., Kendig, D.M., Murthy, K.S., Grider, J.R. 2014. The short chain fatty acids, butyrate and propionate, have differential effects on the motility of the guinea pig colon, *Neurogastroenterology & Motility*, 26(11), 1586-1596.
- 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*, 14(8), 501-509.
- Irwin, C., Khalesi, S., Cox, A.J., Grant, G., Davey, A.K., Bulmer, A.C., Desbrow, B. 2018. Effect of 8-weeks prebiotics/probiotics supplementation on alcohol metabolism and blood biomarkers of healthy adults: a pilot study, *Eur J Nutr*, 57(4), 1523-1534.
- Isomaa, B., Almgren, P., Tuomi, T., Forsen, B., Lahti, K., Nissen, M., Taskinen, M.-R., Groop, L. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome, *Diabetes care*, 24(4), 683-689.
- Ivakhnenko, O.S., Nyankovskyy, S.L. 2013. Effect of the specific infant formula mixture of oligosaccharides on local immunity and development of allergic and infectious disease in young children: randomized study, *Pediatrics Polska*, 88(5), 398-404.
- Ivanov, I.I., de Llanos Frutos, R., Manel, N., Yoshinaga, K., Rifkin, D.B., Sartor, R.B., Finlay, B.B., Littman, D.R. 2008. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine, *Cell host & microbe*, 4(4), 337-349.
- Jebeile, H., Gow, M.L., Lister, N.B., Mosalman Haghghi, M., Ayer, J., Cowell, C.T., Baur, L.A., Garnett, S.P. 2019. Intermittent energy restriction is a feasible, effective, and acceptable intervention to treat adolescents with obesity, *The Journal of Nutrition*, 149(7), 1189-1197.

- Ji, X., Hou, C., Gao, Y., Xue, Y., Yan, Y., Guo, X. 2020. Metagenomic analysis of gut microbiota modulatory effects of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) polysaccharides in a colorectal cancer mouse model, *Food & function*, 11(1), 163-173.
- Jiménez-Pearson, M.-A. (2005), "*Characterization of the mechanisms of two-component signal transduction involved in motility and chemotaxis of Helicobacter pylori*", (Doctoral dissertation, Universität Würzburg).
- Johansson, M.E., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., Hansson, G.C. 2008. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria, *Proceedings of the national academy of sciences*, 105(39), 15064-15069.
- Jung, S.-P., Lee, K.-M., Kang, J.-H., Yun, S.-I., Park, H.-O., Moon, Y., Kim, J.-Y. 2013. Effect of *Lactobacillus gasser* BNR17 on overweight and obese adults: a randomized, double-blind clinical trial, *Korean journal of family medicine*, 34(2), 80.
- Kau, A.L., Planer, J.D., Liu, J., Rao, S., Yatsunenkov, T., Trehan, I., Manary, M.J., Liu, T.-C., Stappenbeck, T.S., Maleta, K.M. 2015. Functional characterization of IgA-targeted bacterial taxa from undernourished Malawian children that produce diet-dependent enteropathy, *Science translational medicine*, 7(276), 276ra24-276ra24.
- Kawano, J., Arora, R. 2009. The role of adiponectin in obesity, diabetes, and cardiovascular disease, *Journal of the cardiometabolic syndrome*, 4(1), 44-49.
- Kelly, J.R., Allen, A.P., Temko, A., Hutch, W., Kennedy, P.J., Farid, N., Murphy, E., Boylan, G., Bienenstock, J., Cryan, J.F. 2017. Lost in translation? The potential psychobiotic *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects, *Brain, behavior, and immunity*, 61, 50-59.
- Kenyon, C. 2001. A conserved regulatory system for aging, *Cell*, 105(2), 165-168.
- Khalesi, S., Sun, J., Buys, N., Jayasinghe, R. 2014. Effect of probiotics on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials, *Hypertension*, 64(4), 897-903.
- Kibe, R., Kurihara, S., Sakai, Y., Suzuki, H., Ooga, T., Sawaki, E., Muramatsu, K., Nakamura, A., Yamashita, A., Kitada, Y. 2014. Upregulation of colonic luminal polyamines produced by intestinal microbiota delays senescence in mice, *Scientific reports*, 4(1), 4548.
- Kim, N., Yun, M., Oh, Y.J., Choi, H.-J. 2018. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics, *Journal of microbiology*, 56(3), 172-182.
- Kim, S., Jazwinski, S.M. 2018. The gut microbiota and healthy aging: a mini-review, *Gerontology*, 64(6), 513-520.

- Klaenhammer, T.R., Kleerebezem, M., Kopp, M.V., Rescigno, M. 2012. The impact of probiotics and prebiotics on the immune system, *Nature Reviews Immunology*, 12(10), 728-734.
- Klempel, M., Kroeger, C., Varady, K. 2013. Alternate day fasting increases LDL particle size independently of dietary fat content in obese humans, *European journal of clinical nutrition*, 67(7), 783-785.
- Klop, B., Elte, J.W.F., Castro Cabezas, M. 2013. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets, *Nutrients*, 5(4), 1218-1240.
- Knights, D., Ward, T.L., McKinlay, C.E., Miller, H., Gonzalez, A., McDonald, D., Knight, R. 2014. Rethinking “enterotypes”, *Cell host & microbe*, 16(4), 433-437.
- Kobayashi, K.S., Chamaillard, M., Ogura, Y., Henegariu, O., Inohara, N., Nuñez, G., Flavell, R.A. 2005. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract, *Science*, 307(5710), 731-734.
- Koenig, J.E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A.D., Stombaugh, J., Knight, R., Angenent, L.T., Ley, R.E. 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement_1), 4578-4585.
- Kotz, C.M., Furne, J.K., Savaiano, D.A., Levitt, M.D. 1994. Factors affecting the ability of a high β -galactosidase yogurt to enhance lactose absorption, *Journal of dairy science*, 77(12), 3538-3544.
- Krumbeck, J.A., Rasmussen, H.E., Hutkins, R.W., Clarke, J., Shawron, K., Keshavarzian, A., Walter, J. 2018. Probiotic Bifidobacterium strains and galactooligosaccharides improve intestinal barrier function in obese adults but show no synergism when used together as synbiotics, *Microbiome*, 6, 1-16.
- Kumar, H., Salminen, S., Verhagen, H., Rowland, I., Heimbach, J., Bañares, S., Young, T., Nomoto, K., Lalonde, M. 2015. Novel probiotics and prebiotics: road to the market, *Curr Opin Biotechnol*, 32, 99-103.
- Kumarappah, A., Senderovich, H. 2016. Therapeutic Touch in the Management of Responsive Behavior in Patients With Dementia, *Adv Mind Body Med*, 30(4), 8-13.
- La Fata, G., Weber, P., Mohajeri, M.H. 2018. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10, 11-21.
- Lagier, J.-C., Khelafifa, S., Alou, M.T., Ndong, S., Dione, N., Hugon, P., Caputo, A., Cadoret, F., Traore, S.I., Seck, E.H. 2016. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics, *Nature microbiology*, 1(12).

- Lakka, H.-M., Laaksonen, D.E., Lakka, T.A., Niskanen, L.K., Kumpusalo, E., Tuomilehto, J., Salonen, J.T. 2002. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men,*Jama*, 288(21), 2709-2716.
- Lakshminarayanan, B., Stanton, C., O'Toole, P.W., Ross, R.P. 2014. Compositional dynamics of the human intestinal microbiota with aging: implications for health,*J Nutr Health Aging*, 18(9), 773-86.
- Lamsal, B.P. 2012. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides,*Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10), 2020-2028.
- Li, Q., Hu, W., Liu, W.-X., Zhao, L.-Y., Huang, D., Liu, X.-D., Chan, H., Zhang, Y., Zeng, J.-D., Coker, O.O., Kang, W., Ng, S.S.M., Zhang, L., Wong, S.H., Gin, T., Chan, M.T.V., Wu, J.-L., Yu, J., Wu, W.K.K. 2021. Streptococcus thermophilus Inhibits Colorectal Tumorigenesis Through Secreting β -Galactosidase,*Gastroenterology*, 160(4), 1179-1193.e14.
- Li, Y., Innocentin, S., Withers, D.R., Roberts, N.A., Gallagher, A.R., Grigorieva, E.F., Wilhelm, C., Veldhoen, M. 2011. Exogenous stimuli maintain intraepithelial lymphocytes via aryl hydrocarbon receptor activation,*Cell*, 147(3), 629-640.
- Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y., Jin, F. 2015. Administration of Lactobacillus helveticus NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress,*Neuroscience*, 310, 561-577.
- Liu, F., Prabhakar, M., Ju, J., Long, H., Zhou, H. 2017a. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials,*European journal of clinical nutrition*, 71(1), 9-20.
- Liu, H., Javaheri, A., Godar, R.J., Murphy, J., Ma, X., Rohatgi, N., Mahadevan, J., Hyrc, K., Saftig, P., Marshall, C. 2017b. Intermittent fasting preserves beta-cell mass in obesity-induced diabetes via the autophagy-lysosome pathway,*Autophagy*, 13(11), 1952-1968.
- Liu, K., Liu, B., Heilbronn, L.K. 2020a. Intermittent fasting: what questions should we be asking?,*Physiology & behavior*, 218, 112827.
- Liu, Z., Dai, X., Zhang, H., Shi, R., Hui, Y., Jin, X., Zhang, W., Wang, L., Wang, Q., Wang, D. 2020b. Gut microbiota mediates intermittent-fasting alleviation of diabetes-induced cognitive impairment,*Nature communications*, 11(1), 855.
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., Huttenhower, C. 2016. The healthy human microbiome. *Genome Med* 8: 51.
- Lombard, V., Golaconda Ramulu, H., Drula, E., Coutinho, P.M., Henrissat, B. 2014. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013,*Nucleic acids research*, 42(D1), D490-D495.

- Long, S.L., Gahan, C.G., Joyce, S.A. 2017. Interactions between gut bacteria and bile in health and disease, *Molecular aspects of medicine*, 56, 54-65.
- Louis, P., Flint, H.J. 2009. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine, *FEMS microbiology letters*, 294(1), 1-8.
- Luna, R.A., Foster, J.A. 2015. Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression, *Curr Opin Biotechnol*, 32, 35-41.
- Mack, D.R., Michail, S., Wei, S., McDougall, L., Hollingsworth, M.A. 1999. Probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 276(4), G941-G950.
- Macpherson, A.J., Uhr, T. 2004. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria, *Science*, 303(5664), 1662-1665.
- Magne, F., Gotteland, M., Gauthier, L., Zazueta, A., Pesoa, S., Navarrete, P., Balamurugan, R. 2020. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?, *Nutrients*, 12(5), 1474.
- Maldonado-Gómez, M.X., Martínez, I., Bottacini, F., O'Callaghan, A., Ventura, M., van Sinderen, D., Hillmann, B., Vangay, P., Knights, D., Hutkins, R.W. 2016. Stable engraftment of *Bifidobacterium longum* AH1206 in the human gut depends on individualized features of the resident microbiome, *Cell host & microbe*, 20(4), 515-526.
- MANGIOLA, F., Nicoletti, A., Gasbarrini, A., Ponziani, F. 2018. Gut microbiota and aging, *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 22(21).
- Marín Fernández, L., Miguélez González, E.M., Villar Granja, C.J., Lombó Brugos, F. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties, *BioMed Research International*.
- Martinez, R.C.R., Bedani, R., Saad, S.M.I. 2015. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges, *British Journal of Nutrition*, 114(12), 1993-2015.
- Mattson, M.P., Longo, V.D., Harvie, M. 2017. Impact of intermittent fasting on health and disease processes, *Ageing research reviews*, 39, 46-58.
- Mattson, M.P., Moehl, K., Ghena, N., Schmaedick, M., Cheng, A. 2018. Intermittent metabolic switching, neuroplasticity and brain health, *Nature Reviews Neuroscience*, 19(2), 81-94.
- Meddah, A.T.T., Yazourh, A., Desmet, I., Risbourg, B., Verstraete, W., Romond, M. 2001. The regulatory effects of whey retentate from bifidobacteria fermented milk

- on the microbiota of the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME), *Journal of applied microbiology*, 91(6), 1110-1117.
- Meehan, C.J., Beiko, R.G. 2014. A phylogenomic view of ecological specialization in the Lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria, *Genome Biol Evol*, 6(3), 703-13.
- Mekary, R.A., Giovannucci, E., Cahill, L., Willett, W.C., van Dam, R.M., Hu, F.B. 2013. Eating patterns and type 2 diabetes risk in older women: breakfast consumption and eating frequency, *Am J Clin Nutr*, 98(2), 436-43.
- Meng, H., Zhu, L., Kord-Varkaneh, H., Santos, H.O., Tinsley, G.M., Fu, P. 2020. Effects of intermittent fasting and energy-restricted diets on lipid profile: A systematic review and meta-analysis, *Nutrition*, 77, 110801.
- Moro, T., Tinsley, G., Bianco, A., Marcolin, G., Pacelli, Q.F., Battaglia, G., Palma, A., Gentil, P., Neri, M., Paoli, A. 2016. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males, *Journal of translational medicine*, 14(1), 1-10.
- Mujagic, Z., De Vos, P., Boekschoten, M.V., Govers, C., Pieters, H.-J.H., De Wit, N.J., Bron, P.A., Masclee, A.A., Troost, F.J. 2017. The effects of *Lactobacillus plantarum* on small intestinal barrier function and mucosal gene transcription; a randomized double-blind placebo controlled trial, *Scientific reports*, 7(1), 40128.
- Murphy, E.A., Velazquez, K.T., Herbert, K.M. 2015. Influence of high-fat-diet on gut microbiota: a driving force for chronic disease risk, *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 18(5), 515.
- Nagpal, R., Mainali, R., Ahmadi, S., Wang, S., Singh, R., Kavanagh, K., Kitzman, D.W., Kushugulova, A., Marotta, F., Yadav, H. 2018. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights, *Nutr Healthy Aging*, 4(4), 267-285.
- Navarro-Garcia, F., Gutierrez-Jimenez, J., Garcia-Tovar, C., Castro, L.A., Salazar-Gonzalez, H., Cordova, V. 2010. Pic, an autotransporter protein secreted by different pathogens in the Enterobacteriaceae family, is a potent mucus secretagogue, *Infection and immunity*, 78(10), 4101-4109.
- Ng, S.C., Plamondon, S., Kamm, M.A., Hart, A.L., Al-Hassi, H.O., Guenther, T., Stagg, A.J., Knight, S.C. 2010. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis, *Inflammatory bowel diseases*, 16(8), 1286-1298.
- Nicholson, J.K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., Pettersson, S. 2012. Host-gut microbiota metabolic interactions, *Science*, 336(6086), 1262-1267.
- Nikbakht Nasrabadi, E., Jamaluddin, R., Abdul Mutalib, M.S., Khaza'ai, H., Khalesi, S., Mohd Redzwan, S. 2013. Reduction of aflatoxin level in aflatoxin-induced rats by the activity of probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota, *J Appl Microbiol*, 114(5), 1507-15.

- 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.
- Odenwald, M.A., Turner, J.R. 2017. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target?, *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(1), 9-21.
- Pacheco, A.R., Barile, D., Underwood, M.A., Mills, D.A. 2015. The impact of the milk glycobiome on the neonate gut microbiota, *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 3(1), 419-445.
- Panigrahi, P., Parida, S., Nanda, N.C., Satpathy, R., Pradhan, L., Chandel, D.S., Baccaglini, L., Mohapatra, A., Mohapatra, S.S., Misra, P.R. 2017. A randomized synbiotic trial to prevent sepsis among infants in rural India, *Nature*, 548(7668), 407-412.
- Perez-Cano, F.J., Gonzalez-Castro, A., Castellote, C., Franch, A., Castell, M. 2010. Influence of breast milk polyamines on suckling rat immune system maturation, *Developmental & Comparative Immunology*, 34(2), 210-218.
- Perez-Muñoz, M.E., Arrieta, M.-C., Ramer-Tait, A.E., Walter, J. 2017. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome, *Microbiome*, 5(1), 1-19.
- Plaza-Díaz, J., Fernández-Caballero, J., Chueca, N., García, F., Gómez-Llorente, C., Sáez-Lara, M.J., Fontana, L., Gil, Á. 2015. Pyrosequencing analysis reveals changes in intestinal microbiota of healthy adults who received a daily dose of immunomodulatory probiotic strains, *Nutrients*, 7(6), 3999-4015.
- Portune, K.J., Beaumont, M., Davila, A.-M., Tomé, D., Blachier, F., Sanz, Y. 2016. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: the two sides of the coin, *Trends in Food Science & Technology*, 57, 213-232.
- Putala, H., Salusjärvi, T., Nordström, M., Saarinen, M., Ouwehand, A.C., Hansen, E.B., Rautonen, N. 2008. Effect of four probiotic strains and Escherichia coli O157: H7 on tight junction integrity and cyclo-oxygenase expression, *Research in microbiology*, 159(9-10), 692-698.
- Pütsep, K., Axelsson, L.-G.r., Boman, A., Midtvedt, T., Normark, S., Boman, H.G., Andersson, M. 2000. Germ-free and colonized mice generate the same products from enteric prodefensins, *Journal of biological chemistry*, 275(51), 40478-40482.
- Quigley, E.M. 2017. Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases, *Current neurology and neuroscience reports*, 17, 1-9.
- Rhee, S.H., Pothoulakis, C., Mayer, E.A. 2009. Principles and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis, *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 6(5), 306-314.

- Rivière, A., Selak, M., Lantin, D., Leroy, F., De Vuyst, L. 2016. Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: importance and strategies for their stimulation in the human gut, *Frontiers in microbiology*, 7, 979.
- Romano, K.A., Vivas, E.I., Amador-Noguez, D., Rey, F.E. 2015. Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide, *MBio*, 6(2), 10.1128/mbio.02481-14.
- Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., González-Sarrias, A., Beltrán, D., Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C., Selma, M.V. 2015. Interindividual variability in the human metabolism of ellagic acid: Contribution of *Gordonibacter* to urolithin production, *Journal of Functional Foods*, 17, 785-791.
- Rooks, M.G., Garrett, W.S. 2016. Gut microbiota, metabolites and host immunity, *Nature reviews immunology*, 16(6), 341-352.
- Round, J.L., Mazmanian, S.K. 2009. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease, *Nature reviews immunology*, 9(5), 313-323.
- Rynders, C.A., Thomas, E.A., Zaman, A., Pan, Z., Catenacci, V.A., Melanson, E.L. 2019. Effectiveness of intermittent fasting and time-restricted feeding compared to continuous energy restriction for weight loss, *Nutrients*, 11(10), 2442.
- Saitoh, Y., Suzuki, H., Tani, K., Nishikawa, K., Irie, K., Ogura, Y., Tamura, A., Tsukita, S., Fujiyoshi, Y. 2015. Structural insight into tight junction disassembly by *Clostridium perfringens* enterotoxin, *Science*, 347(6223), 775-778.
- Saltzman, E., Thomsen, M., Vitetta, L., Hall, S., Nikov, T. (2017). Adjuvant probiotics and the intestinal microbiome: Enhancing vaccines and immunotherapy outcomes.
- Sanders, M.E., Benson, A., Lebeer, S., Merenstein, D.J., Klaenhammer, T.R. 2018. Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims, *Current opinion in biotechnology*, 49, 207-216.
- Sarkar, A., Lehto, S.M., Harty, S., Dinan, T.G., Cryan, J.F., Burnet, P.W. 2016. Psychobiotics and the manipulation of bacteria-gut-brain signals, *Trends in neurosciences*, 39(11), 763-781.
- Satokari, R., Grönroos, T., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E. 2009. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta, *Letters in applied microbiology*, 48(1), 8-12.
- Savage, D.C. 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract, *Annu Rev Microbiol*, 31, 107-33.
- Schugar, R.C., Shih, D.M., Warriar, M., Helsley, R.N., Burrows, A., Ferguson, D., Brown, A.L., Gromovsky, A.D., Heine, M., Chatterjee, A. 2017. The TMAO-

producing enzyme flavin-containing monooxygenase 3 regulates obesity and the being of white adipose tissue,*Cell reports*, 19(12), 2451-2461.

- Selwyn, F.P., Csanaky, I.L., Zhang, Y., Klaassen, C.D. 2015. Importance of large intestine in regulating bile acids and glucagon-like peptide-1 in germ-free mice,*Drug Metabolism and Disposition*, 43(10), 1544-1556.
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R. 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body, *PLoS Biol*, 14(8), e1002533.
- Shafquat, A., Joice, R., Simmons, S.L., Huttenhower, C. 2014. Functional and phylogenetic assembly of microbial communities in the human microbiome,*Trends Microbiol*, 22(5), 261-6.
- Silva, Y.P., Bernardi, A., Frozza, R.L. 2020. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication,*Front Endocrinol (Lausanne)*, 11, 25.
- Singh, R., Manchanda, S., Kaur, T., Kumar, S., Lakhanpal, D., Lakhman, S.S., Kaur, G. 2015. Middle age onset short-term intermittent fasting dietary restriction prevents brain function impairments in male Wistar rats,*Biogerontology*, 16(6), 775-88.
- Singh, T.P., Natraj, B.H. 2021. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine,*Critical Reviews in Microbiology*, 47(4), 479-498.
- Song, D.-K., Kim, Y.-W. 2022. Beneficial effects of intermittent fasting: a narrative review,*Journal of Yeungnam Medical Science*, 40(1), 4-11.
- St-Onge, M.-P., Ard, J., Baskin, M.L., Chiuve, S.E., Johnson, H.M., Kris-Etherton, P., & Varady, K. (2017). Meal timing and frequency: implications for cardiovascular disease prevention: a scientific statement from the American Heart Association, *Circulation*, 135(9), e96-e121.
- Sun, J., Buys, N. 2015. Effects of probiotics consumption on lowering lipids and CVD risk factors: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials,*Ann Med*, 47(6), 430-40.
- Teker, H.T., Ceylani, T. 2023. Intermittent fasting supports the balance of the gut microbiota composition, *International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology*, 26(1), 51-57.
- Templeman, I., Gonzalez, J.T., Thompson, D., Betts, J.A. 2020. The role of intermittent fasting and meal timing in weight management and metabolic health,*Proceedings of the Nutrition Society*, 79(1), 76-87.
- Thibodeaux, C.J., Van Der Donk, W.A. 2012. Converging on a mechanism for choline degradation,*Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(52), 21184-21185.

- Thomas, C., Pellicciari, R., Pruzanski, M., Auwerx, J., Schoonjans, K. 2008. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases, *Nature reviews Drug discovery*, 7(8), 678-693.
- Ulluwishewa, D., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Wells, J.M., Roy, N.C. 2011. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components, *The Journal of nutrition*, 141(5), 769-776.
- Vaughan, K.L., Kaiser, T., Peadar, R., Anson, R.M., de Cabo, R., Mattison, J.A. 2018. Caloric restriction study design limitations in rodent and nonhuman primate studies, *The Journals of Gerontology: Series A*, 73(1), 48-53.
- Vaughn, A.C., Cooper, E.M., DiLorenzo, P.M., O'Loughlin, L.J., Konkkel, M.E., Peters, J.H., Hajnal, A., Sen, T., Lee, S.H., de La Serre, C.B. 2017. Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut-brain vagal communication and increases body fat accumulation, *Acta neurobiologiae experimentalis*, 77(1), 18.
- Velingkaar, N., Mezhnina, V., Poe, A., Makwana, K., Tulsian, R., Kondratov, R.V. 2020. Reduced caloric intake and periodic fasting independently contribute to metabolic effects of caloric restriction, *Aging Cell*, 19(4), e13138.
- Villeda, S.A., Plambeck, K.E., Middeldorp, J., Castellano, J.M., Mosher, K.I., Luo, J., Smith, L.K., Bieri, G., Lin, K., Berdnik, D., Wabl, R., Udeochu, J., Wheatley, E.G., Zou, B., Simmons, D.A., Xie, X.S., Longo, F.M., Wyss-Coray, T. 2014. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice, *Nat Med*, 20(6), 659-663.
- Vulevic, J., Drakoularakou, A., Yaqoob, P., Tzortzis, G., Gibson, G.R. 2008. Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel trans-galactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers, *The American journal of clinical nutrition*, 88(5), 1438-1446.
- Vulevic, J., Juric, A., Walton, G.E., Claus, S.P., Tzortzis, G., Toward, R.E., Gibson, G.R. 2015. Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabonomics in elderly persons, *British Journal of Nutrition*, 114(4), 586-595.
- Wahlström, A., Sayin, S.I., Marschall, H.-U., Bäckhed, F. 2016. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism, *Cell metabolism*, 24(1), 41-50.
- Wang, F., Yu, T., Huang, G., Cai, D., Liang, X., Su, H., ... & Li, Q. (2015). Gut microbiota community and its assembly associated with age and diet in Chinese centenarians.
- Wang, X., Zhang, P., Zhang, X. 2021. Probiotics regulate gut microbiota: an effective method to improve immunity, *Molecules*, 26(19), 6076.

- Wilson, C.L., Ouellette, A.J., Satchell, D.P., Ayabe, T., Lopez-Boado, Y.S., Stratman, J.L., Hultgren, S.J., Matrisian, L.M., Parks, W.C. 1999. Regulation of intestinal α -defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense, *Science*, 286(5437), 113-117.
- Wood, D.E., Salzberg, S.L. 2014. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments, *Genome Biology*, 15(3), R46.
- Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes, *Science*, 334(6052), 105-108.
- Wu, W., Sun, M., Chen, F., Cao, A.T., Liu, H., Zhao, Y., Huang, X., Xiao, Y., Yao, S., Zhao, Q. 2017. Microbiota metabolite short-chain fatty acid acetate promotes intestinal IgA response to microbiota which is mediated by GPR43, *Mucosal immunology*, 10(4), 946-956.
- Xu, C., Zhu, H., Qiu, P. 2019. Aging progression of human gut microbiota, *BMC Microbiol*, 19(1), 236.
- Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A. 2003a. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance, *The Journal of clinical investigation*, 112(12), 1821-1830.
- Xu, J., Bjursell, M.K., Himrod, J., Deng, S., Carmichael, L.K., Chiang, H.C., Hooper, L.V., Gordon, J.I. 2003b. A genomic view of the human-Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis, *Science*, 299(5615), 2074-2076.
- Yang, T., Santisteban, M.M., Rodriguez, V., Li, E., Ahmari, N., Carvajal, J.M., Zadeh, M., Gong, M., Qi, Y., Zubcevic, J., Sahay, B., Pepine, C.J., Raizada, M.K., Mohamadzadeh, M. 2015. Gut dysbiosis is linked to hypertension, *Hypertension*, 65(6), 1331-40.
- Zagato, E., Pozzi, C., Bertocchi, A., Schioppa, T., Saccheri, F., Guglietta, S., Fosso, B., Melocchi, L., Nizzoli, G., Troisi, J., Marzano, M., Oresta, B., Spadoni, I., Atarashi, K., Carloni, S., Arioli, S., Fornasa, G., Asnicar, F., Segata, N., Guglielmetti, S., Honda, K., Pesole, G., Vermi, W., Penna, G., Rescigno, M. 2020. Endogenous murine microbiota member Faecalibaculum rodentium and its human homologue protect from intestinal tumour growth, *Nat Microbiol*, 5(3), 511-524.
- Zamarron, B.F., Mergian, T.A., Cho, K.W., Martinez-Santibanez, G., Luan, D., Singer, K., DelProposto, J.L., Geletka, L.M., Muir, L.A., Lumeng, C.N. 2017. Macrophage proliferation sustains adipose tissue inflammation in formerly obese mice, *Diabetes*, 66(2), 392-406.
- Zapata, H.J., Quagliarello, V.J. 2015. The microbiota and microbiome in aging: potential implications in health and age-related diseases, *J Am Geriatr Soc*, 63(4), 776-81.

- Zhang, G., Deighan, A., Raj, A., Robinson, L., Donato, H.J., Garland, G., Leland, M., Martin-McNulty, B., Koluman, G.A., Riegler, J. 2022. Intermittent fasting and caloric restriction interact with genetics to shape physiological health in mice, *Genetics*, 220(1), iyab157.
- Zhang, M., Wang, H., Tracey, K.J. 2000. Regulation of macrophage activation and inflammation by spermine: a new chapter in an old story, *Critical care medicine*, 28(4), N60-N66.
- Zheng, X., Wang, S., Jia, W. 2018. Calorie restriction and its impact on gut microbial composition and global metabolism, *Frontiers of medicine*, 12, 634-644.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İrem YAMAN

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Fatma Aliye Anadolu Lisesi Merkez Muş	2011-2015
Üniversite	: Muş Alparslan Üniversitesi – Fen Bilimleri Öğretmenliği Merkez Muş	2015-2019
Yüksek Lisans	: Muş Alparslan Üniversitesi – Mikrobiyoloji Merkez Muş	2021-2024

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2019	Palme Akademi Eğitim Kursları	Öğretmenlik
2021	Haşim Özdemir Koleji	Öğretmenlik
2022	MEB	Öğretmenlik

YABANCI DİLLER

İngilizce - B1