



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**MONOSODYUM GLUTAMATIN YAVRU SIÇAN
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ VE
MUHTEMEL ETKİLERİNİN *LACTOBACILLUS DELBRUECKII*
SUBSP. *BULGARICUS* İLE SAĞALTIMI**

Tuğçe Nur BALCI

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev KESER**

**ANKARA
2024**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MONOSODYUM GLUTAMATIN YAVRU SIÇAN
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ VE
MUHTEMEL ETKİLERİNİN *LACTOBACILLUS DELBRUECKII*
SUBSP. *BULGARICUS* İLE SAĞALTIMI

Tuğçe Nur BALCI

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev KESER

ANKARA
2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Monosodyum Glutamatın Yavru Sıçan Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkisi ve Muhtemel Etkilerinin *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile Sağaltımı” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Tuğçe Nur BALCI

Tarih: 25.06.2024

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında

Tuğçe Nur BALCI tarafından hazırlanan

“Monosodyum Glutamatın Yavru Sıçan Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkisi ve Muhtemel Etkilerinin *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile Sağaltımı” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25.06.2024

Prof. Dr. Nurcan YABANCI AYHAN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Alev KESER

Ankara Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN

Atılım Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yeliz GÜÇER ÖZ

Yüksek İhtisas Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Eren CANBOLAT

Ankara Üniversitesi

Üye

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

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Monosodyum Glutamatın Yavru Sıçan Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkisi ve Muhtemel Etkilerinin *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile Sağaltımı

Yaygın kullanıma sahip lezzet verici bir gıda katkı maddesi olan monosodyum glutamat (MSG) gıda otoriteleri tarafından güvenli kabul edilmekle birlikte patofizyolojik ve toksikolojik etkileri ile bağırsak mikrobiyotasını değiştirebilmektedir. Bu nedenle, monosodyum glutamatın yavru sıçan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un bu etkiler üzerindeki düzenleyici potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada altı haftalık sekiz dişi ve sekiz erkek sıçandan oluşan dört grup bulunmaktadır. İlk grup kontrol grubu olup, ikinci gruba MSG (30 mg/kg/gün), üçüncü gruba *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB/10⁷ kob/gün), dördüncü gruba MSG (30 mg/kg/gün) ve LB (10⁷ kob/gün) ile müdahale edilmiştir. Müdahaleler içme suyuna ilave edilerek yapılmıştır. Uygun bakım koşullarında on iki haftalık müdahale boyunca sıçanların haftalık olarak vücut ağırlığı ve su tüketimi verileri ile dışkı örnekleri toplanmıştır. Dışkı örneklerinden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra yeni nesil dizileme yöntemi yardımıyla taksonomik sınıfların tespiti sonucu dışkı mikrobiyota kompozisyonu belirlenmiştir. LB grubunda yer alan erkek sıçanların vücut ağırlığı kazanımı kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalma eğilimi göstermiştir (p<0,001). Deney sonunda dışkı mikrobiyotası *Firmicutes* bolluğu kontrol grubu erkek sıçanlarda artış gösterirken dişi sıçanlarda azalmıştır. MSG grubunda *Firmicutes* bolluğunda artış görülürken, LB grubu dişi sıçanlarda belirgin değişim olmamış, erkek sıçanlarda ise azalma görülmüştür. MSG+LB grubu sıçanlarda *Firmicutes* bolluğu deney sonunda azalmıştır. *Bacteroidetes* bolluğu deney sonunda kontrol ve MSG grubunda azalmış, LB grubunda ise artmıştır. MSG+LB grubu erkek sıçanlarda *Bacteroidetes* bolluğunda bir artış görülürken, dişi sıçanlarda bir miktar azalma gözlenmiştir. *Actinobacteria* bolluğu kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında azalmış, LB grubu erkek sıçanlarda belirgin değişim göstermezken dişi sıçanlarda bir miktar artmıştır. Dışkı mikrobiyotası *Proteobacteria* bolluğu kontrol grubu erkek sıçanlarda belirgin değişim göstermezken, dişilerde artmıştır. MSG ve MSG+LB grubunda deney sonunda *Proteobacteria* bolluğu artmış, LB grubu erkek sıçanlarda artış görülürken dişi sıçanlarda belirgin bir değişiklik görülmemiştir. Dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı kontrol ve MSG gruplarında artış gösterirken, LB ve MSG+LB gruplarında azalmıştır. Bakteri çeşitliliğinin bir göstergesi olan Shannon çeşitlilik indeksi değerleri MSG (p<0,05) ve MSG+LB grubunda yer alan sıçanlarda azalmış, LB grubundaki sıçanlarda ise artmıştır (p<0,05). Bu sonuçlar, MSG ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkilerinin olduğunu göstermektedir. MSG ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un bağırsak sağlığı üzerindeki etkilerinin bilinmesi ve tüm paydaşlarla işbirliği içinde gerekli stratejilerin uygulanması halk sağlığının korunması açısından önemlidir.

Anahtar Sözcükler: Bağırsak mikrobiyotası, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, monosodyum glutamat

SUMMARY

Effects of Monosodium Glutamate on Intestinal Microbiota of Rat Pups and Treatment of Possible Effects with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Monosodium glutamate (MSG), a widely used flavouring food additive, is considered safe by food authorities. However, it can alter the intestinal microbiota with its pathophysiological and toxicological effects. MSG in processed foods can affect the intestinal microbiota with pathophysiological and toxicological effects. Therefore, this study aimed to investigate the effects of monosodium glutamate on the intestinal microbiota of rat pups and the regulatory potential of *L. bulgaricus* on these effects. The study had four groups of eight female and eight male rats aged six weeks. The first group was the control group; the second group received MSG (30 mg/kg/day), the third group received *L. bulgaricus* (LB/10⁷ cfu/day), and the fourth group received MSG (30 mg/kg/day) and LB (10⁷ cfu/day). MSG and LB were added to drinking water. Body weight, water consumption data, and faecal samples were collected weekly throughout the twelve-week intervention period under appropriate care conditions. After DNA isolation from faecal samples, the faecal microbiota composition of taxonomic units was determined using the next-generation sequencing method. The weight gain of male rats in the LB group tended to decrease significantly compared to the control group ($p < 0.001$). At the end of the experiment, the abundance of *Firmicutes* in the faecal microbiota of rats increased in male rats of the control group and decreased in female rats. While there was an increase in *Firmicutes* abundance in the MSG group, there was no significant change in the LB group female rats, and a decrease was observed in male rats. *Firmicutes* abundance in MSG+LB group rats decreased at the end of the experiment. *Bacteroidetes* abundance decreased in the control and MSG groups and increased in the LB group. An increase in *Bacteroidetes* abundance was observed in male rats of the MSG+LB group, while a slight decrease was observed in female rats. The abundance of *Actinobacteria* decreased in control, MSG and MSG+LB groups; did not change notably in the LB group male rats but increased slightly in the female rats. The abundance of faecal microbiota *Proteobacteria* did not present a notable change in male rats in the control group but increased in females. In MSG and MSG+LB groups, it was observed that the abundance of *Proteobacteria* increased at the end of the experiment. While an increase in *Proteobacteria* was observed in male rats of the LB group, no significant change was shown in female rats. In the MSG+LB group, *Proteobacteria* abundance increased at the end of the experiment. The faecal microbiota *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio increased in the control and MSG groups but decreased in the LB and MSG+LB groups. Shannon diversity index values, which is an indicator of bacterial diversity, decreased in rats in MSG ($p < 0.05$) and MSG+LB groups and increased in rats in LB group ($p < 0.05$). These results suggest that MSG and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* have effects on gut microbiota. It is important to know the effects of MSG and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on intestinal health and to implement the necessary strategies in cooperation with all stakeholders to protect public health.

Keywords: Gut microbiota, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, monosodium glutamate

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiii

1. GİRİŞ	1
1.1. Monosodyum Glutamat	3
1.1.1. Monosodyum Glutamatın Metabolizması	5
1.1.2. Monosodyum Glutamat Kullanımına İlişkin Düzenlemeler	7
1.1.3. Monosodyum Glutamatın Besinlerde Kullanım Durumu	9
1.1.4. Monosodyum Glutamat Tüketim Verileri	10
1.1.5. Monosodyum Glutamatın Sağlık Üzerine Potansiyel Etkileri	10
1.2. Bağırsak Mikrobiyotası	12
1.2.1. Yaşamın İlk Yıllarında Bağırsak Mikrobiyotasının Şekillenmesi	16
1.2.2. Diyetin Mikrobiyota Gelişimi ve Değişimi Üzerindeki Etkisi	17
1.2.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Hastalıklar Arasındaki İlişki	18
1.2.4. Monosodyum Glutamatın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri	21
1.3. Probiyotikler	21
1.3.1. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	23
1.3.1.1. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 'un Sindirim Sisteminde ve Üretim Süreçlerinde Sağkalımı	23
1.3.1.2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 'un Potansiyel Etki Mekanizmaları	25
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	27
2.2. Deney Hayvanlarının Temini, Bakımı ve Takibi	28
2.3. Araştırmanın Genel Tasarımı	29
2.3.1. MSG Dozunun Hesaplanması	31
2.3.2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> Desteğinin Sağlanması	33
2.3.3. Dışkı Örneklerinin Alınması ve Saklanması	34
2.3.4. Sakrifikasyon Süreci ve Doku Örneklerinin Alınması	34
2.4. Bağırsak Mikrobiyotası Analizleri	34
2.4.1. Dışkı Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu	34

2.4.2. 16S Metagenomik Dizileme	35
2.4.3. Dizileme Sonuçlarının Biyoinformatik Analizi	36
2.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	36
3. BULGULAR	37
3.1. Sıçanlarda Vücut Ağırlığı Değişiminin Değerlendirilmesi	37
3.2. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotası Profili	39
3.3. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler	41
3.3.1. Erkek Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler	41
3.3.2. Dişi Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler	74
3.4. Sıçanların Dışkı Mikrobiyota Çeşitliliğinin Değerlendirilmesi	108
3.5. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotası Firmicutes/Bacteroidetes Oranının Değerlendirilmesi	109
4. TARTIŞMA	111
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	123
KAYNAKLAR	129
EKLER	149
Ek 1. Etik Kurul Onay Kararı	149
Ek 2. Etik Kurul Uzatma Onay Kararı	151
ÖZGEÇMİŞ	153

ÖNSÖZ

Günümüzde artan işlenmiş besin tüketimi nedeniyle gıda katkı maddeleri diyetlerde sıklıkla yer almaktadır. Aroma verici bir gıda katkı maddesi olan monosodyum glutamatın tüketimi tüm yaş grupları için artış göstermekte olup, sağlık üzerindeki potansiyel etkileri konusunda henüz bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bu tez çalışmasında monosodyum glutamatın bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un bu etkiler üzerinde sağaltım yapma potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular halk sağlığının korunmasına yönelik düzenlemelerin yapılması açısından önemli bir potansiyele sahiptir.

Doktora eğitimimin başlangıcından itibaren nezaketi, bilgisi, tecrübesi, azmi ve yılmazlığı ile bana rol model olan, desteğini her zaman hissettiğim çok kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Alev KESER'e; tez çalışmasının gerçekleştirilebilmesi için bilgi, tecrübe, emek ve sonsuz desteklerini sunan Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP, Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN ve Dr. Öğr. Üyesi Murat KAVRUK'a; tez çalışmasının her aşamasındaki işbirliği ve destekleri ile yanımda olan, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇETİNER ve Arş. Gör. Dr. Emre DUMAN'a; Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'ndaki yardımları için Atilla İŞGÖREN, Nazlı AYDIN, Çelebi DEMİRCAN, Nizamettin ÖZDEMİR ve kedi Tekir'e; laboratuvar çalışmaları esnasındaki yardımları için Farzaneh BONYADI ve Sezai GÖLCÜK'e; evladı olmaktan büyük gurur duyduğum, beni yetiştirip bugünlere getiren canım annem Yurdanur KANDEMİR'e, hayatımdaki varlığı ve koşulsuz sevgisi için canım kardeşim Defne Irmak BALCI'ya; sevgi ve inançları ile bana güç veren başta teyzelerim olmak üzere sevgili geniş aileme; sevgileri ve dostluklarıyla beni sarıp sarmalayan, bana olan inançlarıyla yola devam etme gücü veren çok sevgili Anıl SEÇGİN, Aslı EKİZTEPE ALANLI, Burcu ATEŞ, Ceren DEMİRCAN ve Çağrı YARDIMCI'ya; tezimi yazarken yanıbaşımdaymışım gibi ayrılmayan Kedi'ye; doktora sürecimde yolumun kesiştiği herkese, öğreten ve büyüten tüm karşılaşmalara çok teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	Kabul Edilebilir Günlük Alım Düzeyi (<i>Acceptable Daily Intake</i>)
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
CAC	Kodeks Alimentarius Komisyonu (<i>Codex Alimentarius Committee</i>)
CCM	Çek Mikroorganizma Koleksiyonu (<i>Czech Collection of Microorganisms</i>)
CMC	Karboksimetil selüloz (<i>Carboxymethyl Cellulose</i>)
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EAAC1	Eksitator Amino Asit Taşıyıcısı 1 (<i>Excitatory Amino-Acid Carrier 1</i>)
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (<i>European Food Safety Authority</i>)
EPS	Ekzopolisakkarit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FASEB	Amerikan Deneysel Biyoloji Dernekleri Federasyonu (<i>Federation of American Societies for Experimental Biology</i>)
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (<i>Food and Drug Administration</i>)
g	Gram
GLP	Glukagon Benzeri Peptid (<i>Glucagone-Like Peptide</i>)
GRAS	Genellikle Güvenli Kabul Edilen (<i>Generally Recognized as Safe</i>)
IgA	İmmünoglobulin A
IL	İnterlökin
INS	Uluslararası Numara Sistemi (<i>International Numbering System</i>)
ISAPP	Ulusal Probiyotik ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği (<i>The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics</i>)
İBH	İnflamatuar Bağırsak Hastalığı
İBS	İrritabl Bağırsak Sendromu
JECFA	FAO/WGO Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i>)

kg	Kilogram
kob	Koloni Oluşturan Birim
KZYA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
LAB	Laktik Asit Bakterisi
<i>L. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
LPS	Lipopolisakkarit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MSG	Monosodyum Glutamat
NaCl	Sodyum Klorür
NaDC	Sodyum Dikarboksilat Taşıyıcı (<i>Sodium Dicarboxylate Cotransporter</i>)
NAFLD	Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (<i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>)
NOAEL	Hiçbir Yan Etki Göstermeyen Doz (<i>No Observed Adverse Effect Level</i>)
OD	Optik Dansite
PCoA	Temel Bileşen Ordinat Analizi (<i>Principal Coordinate Analysis</i>)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı (<i>Revolutions Per Minute</i>)
SCF	Bilimsel Gıda Komitesi (<i>Scientific Committee on Food</i>)
TLR	Toll-Benzeri Reseptör (<i>Toll-Like Receptor</i>)
TMA	Trimetilamin
TMAO	Trimetilamin-N-oksit
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (<i>World Health Organization</i>)
µM	Mikromolar

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Bağırsak mikrobiyotası örnek filum, sınıf, takım, familya, cins ve tür dağılımı	14
Şekil 2.1. Örneklem büyüklüğü formülü	27
Şekil 2.2. Araştırmanın akış şeması	30
Şekil 3.1. A-B) MSG, C-D) LB ve E-F) MSG+LB grubu, sırasıyla erkek ve dişi sıçanlarda başlangıç zamanına göre normalize vücut ağırlığının kontrol grubuna göre değişimi	38
Şekil 3.2. Erkek sıçan dışkı mikrobiyotasında en sık görülen taksonomik sınıflar	40
Şekil 3.3. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en sık görülen taksonomik sınıflar	41
Şekil 3.4. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	44
Şekil 3.5. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların filum Temel Koordinat Analizi (PCoA)	45
Şekil 3.6. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	49
Şekil 3.7. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların sınıf Temel Koordinat Analizi (PCoA)	50
Şekil 3.8. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	55
Şekil 3.9. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların takım Temel Koordinat Analizi (PCoA)	56
Şekil 3.10. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	60
Şekil 3.11. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların familya Temel Koordinat Analizi (PCoA)	61
Şekil 3.12. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 15 cins A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	66
Şekil 3.13. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların cins Temel Koordinat Analizi (PCoA)	67
Şekil 3.14. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 20 tür A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	72
Şekil 3.15. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların tür Temel Koordinat Analizi (PCoA)	73
Şekil 3.16. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 7 filum A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	77
Şekil 3.17. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların filum Temel Koordinat Analizi (PCoA)	78
Şekil 3.18. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 sınıf A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	82

Şekil 3.19. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların sınıf Temel Koordinat Analizi (PCoA)	83
Şekil 3.20. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	88
Şekil 3.21. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların takım Temel Koordinat Analizi (PCoA)	89
Şekil 3.22. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 familya A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	94
Şekil 3.23. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların familya Temel Koordinat Analizi (PCoA)	95
Şekil 3.24. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 15 cins A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	100
Şekil 3.25. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların cins Temel Koordinat Analizi (PCoA)	101
Şekil 3.26. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 20 tür A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim	106
Şekil 3.27. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların tür Temel Koordinat Analizi (PCoA)	107

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve hastalıklar arasındaki ilişki	20
Çizelge 2.1. Müdahale gruplarında yer alan sıçanların su tüketimi, vücut ağırlığı ve MSG dozu verileri	31
Çizelge 3.1. Kontrol ve müdahale grupları erkek ve dişi sıçanların zamana göre dışkı mikrobiyotası Shannon çeşitlilik indeksi değerleri	109
Çizelge 3.2. Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan erkek ve dişi sıçanların zamana göre <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> oranları	110
Çizelge 5.1. Kontrol ve deney gruplarında yer alan erkek ve dişi sıçanların deney süresince bağırsak mikrobiyotalarında meydana gelen başlıca değişimler	124

1. GİRİŞ

Modernleşen dünyada değişen besin tüketim alışkanlıklarının bir sonucu olarak işlenmiş ürünler ile birlikte bireylerin gıda katkı maddesi tüketimleri de artmaktadır (Statovci vd., 2017). Gıda katkı maddeleri besinlerin muhafazasında yüzyıllardır kullanılmakta olup tüketime hazır besinlerdeki faydalı kullanımı göz önünde bulundurulduğunda gıda katkı maddeleri olmadan pek çok ürününün üretiminin mümkün olmayacağı anlaşılmaktadır (Laganà vd., 2017). Dolayısıyla, gıda katkı maddeleri modern insanın hayatında bulunmaya devam edecektir. Halk sağlığının korunması adına gıda katkı maddelerinin sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların sürekli olarak devam etmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda gıda katkı maddelerine ilişkin değerlendirmeler, görüş bildirimi ve yasal düzenlemeler dünyada Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Drug Administration, FAO)/ Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA), Codex Alimentarius, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA), Avrupa Komisyonu, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) gibi farklı kurumlar tarafından yapılmaktadır (European Parliament & Council of Europe, 2008; Magnuson vd., 2013; Rangan ve Barceloux, 2009). Türkiye’de gıdalarda kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddeleri, kullanım koşulları ve etiketleme kuralları Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından düzenlenmektedir (Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 2023). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Avrupa Birliği mevzuatına uyum çerçevesinde 1333/2008 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü dikkate alınarak hazırlanmıştır (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023).

Gıda katkı maddeleri gıdaların raf ömrünün uzatılması; lezzet, doku, renk ve besin değerinin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır (Miclotte vd., 2020). Günümüzde yaygın olarak kullanılan aroma verici gıda katkı maddelerinden biri olan monosodyum glutamat (MSG) (E621) umami lezzet sağlamaktadır (Niaz vd., 2018; Thuy vd., 2020). Yapılan geçmiş prekliniik çalışmalarda, MSG'nin biyokimyasal parametreleri (HDL, LDL, glikoz, trigliseritler, oksidatif stres biyobelirteçleri, insülin, leptin) ve çeşitli organları etkilediği; kalp dokusunda değişikliklere, hepatotoksisiteye, nörotoksisiteye, metabolik değişikliklere ve obeziteye neden olduğu gösterilmiştir (Bayram vd., 2023; Zănfirescu vd., 2019). Klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda ise ağırlıklı olarak iştah, besin alımı ve vücut ağırlığı artışına ilişkin olmak üzere; MSG duyarlılığı, ağrı ve atopik dermatit gibi etkiler bildirilmiştir (Zănfirescu vd., 2019).

EFSA tarafından 2006 yılında MSG için belirlenen günlük kabul edilebilir alım düzeyi (Acceptable Daily intake, ADI) değeri, 2017 yılında yapılan tekrar değerlendirme sonucunda 30 mg/kg/gün olarak tekrar düzenlenmiş ve tüm yaş grupları için bu sınırın aşıldığı rapor edilmiştir (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2017).

Monosodyum glutamat tüketiminin mikrobiyota üzerindeki etkisini inceleyen çalışma sayısı oldukça kısıtlı olmakla birlikte belirli hayvan çalışmaları, MSG'nin bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu öne sürmektedir (Feng vd., 2015; Peng vd., 2018; Pongking vd., 2020). Bu durum, MSG'nin sadece aroma verici bir gıda katkı maddesi olarak değil, aynı zamanda insan sağlığını etkileyebilecek kimyasal bir ajan olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Çeşitli gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerinde gözlemlenen etkileri doğrultusunda EFSA, bağırsak mikrobiyotası için risk analizi ile gıda ve yem güvenlik analizlerinde mikrobiyomun rolüne ilişkin çalışmaları geleceğe yönelik ajandasına eklemiştir (EFSA Scientific Committee, 2019).

Yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotiklerin tüketimi bağırsak mikrobiyotasının bileşimini olumlu yönde etkileyebilir ve farklı bağışıklık hücreleriyle etkileşime girerek bağışıklık fonksiyonlarını iyileştirebilir. Bu nedenle probiyotiklerin sağlığı geliştirici ve immünomodülatör özellikleri olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Araya vd., 2002; Mazziotta vd., 2023). Probiyotik bakteriler, farklı mekanizmalar ile sağlık üzerinde farklı etkiler göstermektedir (Cryan vd., 2019).

Hem besin takviyesi hem de gıda üretim sektöründe arzu edilen niteliklere sahip olan probiyotik *Lactobacillus* türleri; fermente süt, et veya sebze ürünleri ile ekşi mayalı ekmeklerin üretiminde ve aynı zamanda probiyotik olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Dempsey & Corr, 2022). Başlıca probiyotik *Lactobacillus* türleri arasında yer alan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) yüzyıllardır fermente süt ürünlerinde en yaygın kullanılan probiyotiktir (Qiu vd., 2021). *L. bulgaricus*'un antibakteriyel ve immünostimülatör etki gösterdiği, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, mikrobiyota kompozisyonunu ve işlevini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (Abedi vd., 2013; Guglielmotti vd., 2007; Makino vd., 2016; Şengül vd., 2011; Usui vd., 2018).

Monosodyum glutamatın bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini inceleyen çalışma sayısı kısıtlı olup bu etkilerinin aydınlatılmasıyla geçmişte metabolik süreçler

üzerinde gösterilmiş etkilerinin mikrobiyota kaynaklı kökenlerine de inilebilecektir. Diyetin önemli probiyotik kaynaklarından yoğurt kültürünün iki suşundan biri olan *L. bulgaricus*, aynı zamanda pek çok farklı kültürün mutfağında yer alan pek çok farklı fermente besinin de yaygın bir ögesidir. *L. bulgaricus*'un sağlık üzerindeki olumlu etkiler gösterdiğine dair potansiyel veriler mevcuttur. Literatürde, kombine bir şekilde MSG ve *L. bulgaricus* alımının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Araştırma sonucunda MSG'nin sıçan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri tespit edilecek ve *L. bulgaricus*'un bu muhtemel etkiler üzerindeki sağaltım potansiyeli gösterilecektir.

Amaç ve Hipotezler

Bu tez çalışması, MSG ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* desteğinin yavru sıçanların bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülmüştür.

Çalışmanın hipotezleri;

- Monosodyum glutamat (E621) bağırsak mikrobiyotası kompozisyonunu olumsuz yönde etkiler.
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bağırsak mikrobiyotası kompozisyonunu olumlu yönde etkiler.
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, monosodyum glutamatın bağırsak mikrobiyotası üzerindeki olumsuz etkisini azaltır.

1.1. Monosodyum Glutamat

Monosodyum glutamat (MSG), işlenmiş gıdalarda yaygın olarak kullanılan aroma verici gıda katkı maddesidir (Niaz vd., 2018). Besinlerde doğal olarak bulunan l-glutamik asitin sodyum tuzu olup, doğadaki en yaygın amino asitlerden biridir (Jinap & Hajeb, 2010). Beyaz renkli kristalize bir pudra yapısında olan monosodyum glutamat suda çözünmektedir (Henry-Unaeze, 2017).

Alman kimyager Ritthausen, 1866 yılında buğday gluteni bileşeni gliadinin asidik hidrolizi yoluyla saf bir madde olarak glutamik asit elde eden ilk kişidir (Farhat, 2021). Alman

ordularının beslenmesinde önemli rolü olan dana ekstraktının mucidi Justus von Liebig'den ilhamla Japon diyetini daha lezzetli ve besleyici hale getirme hedefiyle araştırmalar yapan kimyager Kikunae Ikeda, 1908 yılında Japon mutfağında standart bir balık suyu olan konbu dashiye aromasını veren deniz yosunu bileşeni glutamik asidi ($C_5H_9NO_4$), izole etmeyi başarmıştır. Ikeda (2002), bu aromayı Japoncada lezzetli anlamına gelen “umami” olarak adlandırmıştır. Günümüzde umami, diğer temel tatlar olan tatlı, ekşi, tuzlu ve acı ile birlikte beşinci temel tat biçimi olarak yaygın bir şekilde kabul görmektedir (Kurihara, 2015). Bu keşif sonrasında l-glutamik asidin tuzları da araştırılmış ve bunların da umami lezzeti sağladığı görülmüştür (Thuy et al., 2020). Japonya, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), İngiltere ve Fransa'da patent altına alınan monosodyum glutamatın Ajinomoto şirketi tarafından üretimi başlamıştır. İlk zamanlarında düşük satış trendi gösteren ürün için şirket Batı etkisindeki, güncel bilimsel gelişmeleri takip eden burjuva kadınları pazarlama hedefine almıştır. Dönemin beslenme konusunda otorite figürü olan yazarı Murai Gensai'nin sözleriyle de reklamlarını destekleyen şirket toplumun dikkatini çekmeye başlamıştır. Aşçıların, amatörlerin yapacağı yemeklerin bir malzemesi olarak gördüğü monosodyum glutamat, tüketicilerin değişen damak tadının bir sonucu olarak restoran yemeklerinin de bu lezzeti yakalayabilmesi adına restoranlara girmeye başlamıştır (Sand, 2005).

Bilim dünyasının ve toplumun dikkatini monosodyum glutamata çeviren önemli bir dönüm noktası ise Robert Ho Man Kwok tarafından *New England Journal of Medicine (NEJM)* dergisinde Çin Restoranı Sendromu'na dair yayınlanan bir makaledir. Kwok, kendi tecrübelerinden yola çıkarak, arkadaşları ile de yaptığı fikir alışverişleri doğrultusunda, ABD'de geçirdiği yıllar boyunca, Çin restoranlarında ilk yemeğini tükettikten yaklaşık 15-20 dakika sonra ortaya çıkan ve 2 saat süresince devam eden, ensede başlayan ve kademeli olarak kollar ve sırtta yayılan uyuşma, genel olarak güçsüzlük ve çarpıntıyla karakterize olan bir sendromu tanımlamıştır. Yazar sendromun kaynağının muhtemel sebepleri arasında soya sosundaki belirli bir bileşen, yemekte kullanılan şarap, monosodyum glutamat veya yüksek miktardaki tuz içeriği olabileceğini tartışmış, konuyu bilim dünyasının görüşüne ve çalışmalarına açmıştır (Kwok, 1968). Monosodyum glutamata yönelik önyargı ve Çin mutfağı ile ilişkilendirilmesi, özellikle ABD özelinde Çinli göçmenlere ve mutfaklarına olan önyargıya bağlı olabileceğini düşündürmektedir (Mosby, 2009).

1.1.1. Monosodyum Glutamatın Metabolizması

Besinlerdeki glutamat ağız boşluğunda, umami tat olarak adlandırılan ve genellikle beyinde diyetle protein alımı için bir sinyal olduğu düşünülen benzersiz bir tat ortaya çıkarır (Torii vd., 2013). Chaudhari vd. (2000) sıçanların ağızda yer alan, glutamik aside özgü bir tat reseptörü (taste-mGluR4) tanımlamış ve böylece umami tadı moleküler düzeyde doğrulanmıştır (Chaudhari vd., 2000). Bu reseptör tat tomurcuğu hücrelerinin çevresindeki glutamatın varlığıyla kimyasal olarak uyarılmakta ve beyne elektrik sinyali göndererek umami tadın deneyimlenmesini sağlamaktadır. Bu çalışmayı takiben farklı bir araştırma grubu, hem umami hem tatlı tadı algılamada görevli, glutamat da dahil olmak üzere farklı amino asitlere tepki verdiği görülen, G proteinine bağlı T1R1 ve T1R3 adlı iki reseptör daha tespit etmiştir (Li vd., 2002; Lindemann vd., 2002; Nelson vd., 2002). Sonrasında sırasıyla 2004, 2005, 2010 ve 2013 yıllarında umami reseptörleri GPRC6A, mGluR1, CaSR ve GPR92'nin de bulunmasının ardından umami temel tatlardan biri olarak kabul edilmiştir (Zhang vd., 2019; Zhang vd., 2017).

Glutamat emilimi sodyum bağımlı aktif taşıma ile ince bağırsakta gerçekleşir ve büyük oranda gastrointestinal duvarda metabolize olması nedeniyle sistemik kullanılabilirliği düşüktür (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) vd., 2017). Besinlerle alınan glutamatın neredeyse tamamının bağırsakta metabolize edildiği, öncelikle enterositler için bir enerji kaynağı olarak hizmet ettiği ve dolaşıma giremediği bilinmektedir (Reeds vd., 2000; Wu, 1998). Besinlerle alınan glutamatın neredeyse tamamının sıçan bağırsağında karbondioksit, laktat, alanin veya proline metabolize edildiği bildirilmiştir (Nakamura vd., 2013). Diyet glutamatı (besinlerde doğal olarak bulunan veya katkı maddesi olarak alınan) bağırsak lümeninde seçici taşıyıcılar (en sık görüleni olan eksitatör amino asit taşıyıcısı C1/EAAC1 ve sodyum karboksilat taşıyıcısı/NaDC-1) aracılığıyla enterositlerin apikal membranından alınır (Hajihassani vd., 2020). Kalın bağırsakta, kolonositler tarafından arteriyel kandan adsorbe edilir ve glutamatın kolon lümeninden portal dolaşıma geçişi neredeyse ihmal edilebilir düzeydedir (Burrin & Stoll, 2009). Hem insanlarda hem de farklı hayvan modellerinde, enteral yolla verilen glutamatın %75-96'sı gastrointestinal sistem, karaciğer, dalak ve pankreası kapsayan dolaşım hattı olan splanknik yatakta ilk geçiş sırasında uzaklaştırılır ve bu glutamatın %80'inden fazlası, bağırsak fonksiyonlarını desteklemek için gerekli olan enerji üretimine katkıda bulunur (Haÿs vd., 2007; Janeczko vd., 2007). Diyetle alınan glutamatın sağlıklı yetişkinlerde ve preterm bebeklerde splanknik ilk geçiş sırasında yoğun bir şekilde okside olduğu gösterilmiştir (Battezzati vd., 1995; Riedijk vd., 2007). Genç

domuzlarda yapılan çalışmalar, glutamatın tamamına yakının emilim sırasında metabolize olduğunu ve sistemik kullanılabilirliğin %13-17 seviyesinde olduğunu göstermiştir (Burrin & Stoll, 2009; Janeczko vd., 2007). Yenidoğanlar ile yürütülen bir çalışmada, insanlarda da glutamatın neredeyse tamamının metabolize olduğu rapor edilmiştir (Has vd., 2007).

Normal diyet koşullarında diyetle yer alan glutamat bağırsak geçişi esnasında karbondioksite metabolize veya okside olmaktadır (Burrin & Stoll, 2009). Glutamat aynı zamanda bağırsak protein sentezine de katkıda bulunabilir ve karbon azot donörü olarak temel birçok metabolik yolda (prolin ve arginin sentezi, sitrulin ve glutatyon dahil olmak üzere, amino asitlerin sentezi) kullanılabilir (Reeds vd., 2000). Preterm bebekler, yetişkinler, domuzlar ve yavru domuzlarda yapılan çalışmalar, bu geniş lüminal glutamat metabolizmasının sistemik emilimi sınırladığını göstermektedir (Has vd., 2007; Reeds vd., 1996, 2000; Tsai & Huang, 1999). Kalan az miktarda glutamat portal vene geçer, bu da düşük sistemik glutamat konsantrasyonunun nedeni olabilir (Nakamura vd., 2013). Glutamatın diğer amino asitlere kıyasla sistemik dolaşıma düşük konsantrasyonlarda (10-50 μ M) geçişi sayesinde aşırı miktarda alınan glutamatın özellikle duyarlı bölgelere, örneğin beyine, erişimi engellenir (Tom, 2018).

Normal diyetle glutamat alımının insanlarda kan glutamat konsantrasyonu üzerinde sadece ihmal edilebilir bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Ghezzi vd., 1985; Reeds vd., 2000; Stegink vd., 1985). Besinlere eklenen yüksek miktarda MSG'nin (100 mg/kg/gün) dahi insanlarda plazma glutamat seviyelerinde sadece hafif bir değişikliğe yol atığı (Tsai & Huang, 1999) ve insanlarda bazal glutamat konsantrasyonunun uzun süreli MSG tüketiminden etkilenmediği de gösterilmiştir (Tanphaichitr vd., 2000). Monosodyum glutamat içeren suya serbest erişimi olan sıçanlarda, MSG yüksek miktarlarda tüketildiğinde, glutamat da dahil olmak üzere amino asitlerin kan seviyelerinin neredeyse sabit seviyelerde tutulduğu gösterilmiştir (Kondoh & Torii, 2008; Nishigaki vd., 2018). Portal kanda görülen glutamat miktarı normal veya orta derecede yüksek diyet glutamat seviyelerinde genellikle çok düşüktür ve diyet glutamatının emiliminden ziyade bağırsak glutaminazının etkisiyle glutamin katabolizmasından kaynaklanma olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır (Battezzati vd., 1995).

Besin alımından bağımsız olarak aşırı tüketim durumunda ise bağırsağın glutamatu metabolize etme kapasitesi henüz net olarak bilinmemektedir (Has vd., 2007). Oral olarak 220 dakika boyunca her 20 dakikada bir 30 mg/kg dozunda uygulandığında plazma glutamat

seviyesi herhangi bir yan etki olmaksızın 80 dakika içinde zirve yapmıştır (Rutten vd., 2006). MSG'nin aşırı alımının plazmadaki glutamat ve aspartat konsantrasyonunu 1-2 saat boyunca artırdığı bildirilmiştir (Graham vd., 2000). Günlük aşırı MSG alımı plazma glutamat seviyesinin yükselmesine neden olabilir. Glutamatın plazma seviyeleri doz, konsantrasyon ve yaş gibi bazı faktörlere bağlıdır. Örneğin, yenidoğan sıçanlarda MSG konsantrasyonundaki bir artış (%2'den %10'a) plazmada beş kat artışa yol açmaktadır (Boisrobert, 2010). Çok yüksek miktarda MSG (330 mg/kg) ilave edilmiş bir diyetle beslenen domuzlarda da geçici olarak portal ve arteriyel glutamat seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir (Blachier vd., 1999).

Beyinde, glikozdan dolaylı olarak üretilen glutamat önemli bir nörotransmitter olarak görev yapar ve sinaptik plastisiteyi, öğrenmeyi, hafızayı, motor aktiviteyi ve nöral gelişimi düzenler. Diyetle alınan glutamat ise dolaşımdaki kana neredeyse hiç karışmaz. Kan ve beyin arasında glutamata karşı kan-beyin bariyeri mevcuttur ve beyine geçişi önlenir. Monosodyum glutamatın 1 g/kg'a kadar olan dozlarının kan-beyin bariyerini önemli ölçüde geçmediği bulunmuştur (Caccia vd., 1982). Normal koşullarda diyet glutamatı kan-beyin bariyerini aşamaz fakat çeşitli faktörler tarafından indüklenen bariyer geçirgenliğindeki değişikliklerin (stres, diyet ve bağırsak mikrobiyota değişiklikler), lümenal glutamatın santral sinir sistemine transferine neden olması ihtimali henüz reddedilmemiştir (Baj vd., 2019).

Bunlara ek olarak; MSG'nin bağırsak bariyerini geçmek zorunda kalmadan, mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseninde glutamaterjik reseptörlere bağlı olarak sinyalizasyon ile ve protein agregasyonu üzerinde yarattığı olası etkileri fizyolojik ve nörolojik sonuçlara neden olabileceği öne sürülmüştür (Ahanger vd., 2021; Baj vd., 2019).

1.1.2. Monosodyum Glutamat Kullanımına İlişkin Düzenlemeler

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan MSG'nin güvenliği dünya çapındaki farklı gıda otoriteleri tarafından incelenmektedir. Geçmiş yıllarda FDA, JECFA ve Avrupa Komisyonu Bilimsel Gıda Komitesi (Scientific Committee on Food, SCF) gibi önemli bilimsel komiteler ve düzenleyici kurumlar MSG'nin güvenliğini değerlendirmiş ve hepsi ayrı ayrı MSG'nin normal bir alım seviyesinde tüketilmesinin güvenli olduğu ve MSG kullanımını genel halk için uzun vadeli tıbbi sorunlara bağlayan bir kanıt olmadığı sonucuna varmıştır (Walker & Lupien, 2000).

Monosodyum glutamat; JECFA, FDA ve EFSA tarafından genellikle güvenli olarak kabul edilen (Generally Recognized as Safe, GRAS) listede kabul edilmiştir (Zanfirescu vd., 2019). Bununla birlikte, çeşitli araştırmacılar hem bilime dayalı hem de deneyime dayalı prosedürler için GRAS listesine dahil etme kriterlerinin, toksisite testlerinde gerçekleştirilen olaylara dayanarak güncellenmesi gerektiğini önermiştir (Barraj vd., 2016). EFSA, 2006 yılında içlerinde monosodyum glutamatın da yer aldığı belirli gıda katkı maddeleri için gözlemlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) değerlerini dikkate alarak ADI düzeylerini belirlemiştir (Zanfirescu vd., 2019). 2017 yılında ise EFSA tarafından yapılan tekrar değerlendirme sonucunda glutamik asit ve tuzlarının karsinojenik, üreme veya gelişimsel etkilerinin olmadığı ve genotoksisiteye ilişkin endişe yaratmadığı bildirilmiş; aynı raporda glutamik asit/glutamatlar [glutamik asit (E 620), monosodyum glutamat (E 621), monopotasyum glutamat (E 622), kalsiyum diglutamate (E 623), monoamonyum glutamat (E 624) ve magnezyum diglutamat (E 626)] için ADI değeri 30 mg/kg/gün olarak, NOAEL değeri ise 3200 mg/kg olarak düzenlemiştir (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2017).

Besinlerde monosodyum glutamat kullanımı EFSA Paneli tarafından düzenlenmiş olup, tuz ikameleri ile baharat ve çeşniler için izin verilen maksimum izin verilen düzey Quantum satis; gıda katkı maddesi kullanımına izin verilen diğer tüm besinler için ise 10.000 mg/kg olarak belirtmiştir (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) vd., 2017). Quantum satis, herhangi bir maksimum sayısal seviyenin belirtilmediği ve maddelerin iyi üretim uygulamalarına uygun olarak, hedeflenen amaca ulaşmak için gerekli olandan daha yüksek olmayan bir seviyede ve tüketicinin yanıltılmaması koşuluyla kullanılacağı anlamına gelmektedir (European Parliament and Council of the European Union, 2008). Türk Gıda Kodeksinde de benzer şekilde besinlerde kullanım için maksimum izin verilen monosodyum glutamat kullanım miktarı 10 g/kg'dır (Resmi Gazete, 2023). Ek olarak, EFSA diyet ile alıma en fazla katkıda bulunan besin kategorilerinde (fırın mamülleri, çorbalar ve et suları, soslar, et ve et ürünleri, baharat ve çeşniler, gıda takviyeleri) izin verilen maksimum seviyelerin gözden geçirilmesini önermektedir (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2017). Monosodyum glutamat 1958 yılından bu yana FDA tarafından GRAS kategorisinde bir madde olarak listelenmiştir (Thuy vd., 2020). Bununla birlikte, Amerikan Deneysel Biyoloji Dernekleri Federasyonu (Federation of American Societies for Experimental Biology, FASEB) Panelinin belirli bireylerin MSG'ye karşı duyarlılığı olabileceği kabulü nedeniyle besinlerde kullanılan MSG'nin etikette beyan edilmesi gerekmektedir (United States Office of the Federal Register, 1995).

1.1.3. Monosodyum Glutamatın Besinlerde Kullanım Durumu

Monosodyum glutamat çoğunlukla besin endüstrisinde; hazır besinlerin ve fast food ürünlerin işlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca doğrudan tüketicilere ve toplu beslenme hizmeti sağlayıcılarına çeşni ve baharat karışımları olarak da satılmakta ve bu kurumlar tarafından kullanılmaktadır. Buna ek olarak, MSG hayvan yemlerinde ihmal edilebilir bir miktarda kullanılmaktadır (Thuy vd., 2020). Fransa’da yürütülen bir araştırmada, açık kaynak veri tabanında yer alan 126.556 ürünün 2021 tanesinde MSG mevcut olduğu, en sık tespit edilen ilk 30 katkı maddesi arasında yer aldığı tespit edilmiş, en sık kullanıldığı ürünler ise hazır noodle ve cipsler olarak belirtilmiştir (Chazelas vd., 2020). Yine Fransa’da 132.222 katılımcı ile gerçekleştirilen bir çalışmada, en az iki günlük geriye dönük besin tüketim kaydına dayanan veriler neticesinde MSG’nin ek sık kullanılan 50 katkı maddesi arasında yer aldığı ve %15,1 kullanım oranı ile 14. sırada yer aldığı gösterilmiştir Çalışma kapsamında genel olarak ADI düzeyini aşan bireylerin sayısı kısıtlı olmakla birlikte (%7,07) MSG spesifik tüketiciler incelendiğinde bu oranın %46,74 olduğu görülmüştür (Chazelas vd., 2021).

İşlenmiş gıdalarda miktar belirtilmeksizin eklenen MSG bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle, günlük MSG tüketimi doğru bir şekilde hesaplanamamaktadır (Rizk vd., 2022). Sistematik bir derlemede, gelişmiş ülkelerdeki gıda güvenliği sorunları incelendiğinde yanlış etiketleme (%38), mikrobiyal kontaminasyonlar (%22) ve kimyasal kontaminasyonların (%19) gıda pazarındaki en yaygın gıda güvenliği sorunları olduğu görülmüştür. Gelişmekte olan ülkelerde de benzer şekilde mikrobiyal kontaminasyonlar (%26), kimyasal kontaminasyonlar (%16), tağşiş (%16), gıda katkı maddelerinin yanlış kullanımı (%16) ve yanlış etiketlemenin (%16) yaygın gıda güvenliği sorunları arasında yer aldığı gösterilmiştir (Gizaw, 2019). Ek olarak, günlük MSG tüketimi, farklı kaynaklardan glutamat alımından etkilenmektedir. Proteinlerin doğal bir bileşeni olarak, bazı fermente besinlerde serbest glutamat olarak, bir katkı maddesi olarak gıdalara eklenmesi sonucu besinlerden glutamat alınabilir (Tennant, 2018). MSG tüketiminin sağlık üzerindeki etkilerini inceleyecek gelecek çalışmalarda yönelik olarak besinlerde yer alan MSG miktarına ilişkin veri tabanı oluşturulması eklenmiş MSG ile proteinlerde bulunan glutamat ve besinlerde doğal olarak bulunan serbest glutamat arasında ayırım yapmayı sağlayacaktır (Brosnan vd., 2014).

1.1.4. Monosodyum Glutamat Tüketim Verileri

Uluslararası ve ulusal literatürde MSG alımına ilişkin veriler kısıtlıdır. Günlük ortalama tüketim tahminleri, ABD ve Avrupa için 0,3–1,0 g/gün, Birleşik Krallık için 0,6–2,0 g/gün, Tayvan için 1,5–3,0 g/gün, Japonya için 1,1–1,6 g/gün, Güney Kore için 1,6–2,3 g/gün ve Nijerya için 0,56–1,0 g/gün arasında olup, Asya ülkelerinde alımın daha fazla olduğu görülmektedir (Beyreuther vd., 2007; Geha vd., 2000; Filer, 1979; Lee ve Lee, 1986; Maga & Yamaguchi, 1983; Rhodes vd., 1991; Tomé, 2018). Yüksek alım düzeyine sahip olan bireyler için ise Avrupa'da 1 g/gün'e, Asya ülkelerinde 4 g/gün'e kadar çıkan alımlar mümkündür (Beyreuther vd., 2007). Yaşlılar hariç tüm nüfus gruplarında glutamatlara mevcut maruziyetin ADI değerini aştığı konusunda da EFSA Paneli uyarıda bulunmuştur (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) vd., 2017). Veriler incelendiğinde dünya genelinde beslenmede yaşanan dönüşüm göz önünde bulundurulduğunda, MSG alım miktarlarına ilişkin çalışmaların güncellenmesi gerektiği düşünülmektedir.

1.1.5. Monosodyum Glutamatın Sağlık Üzerine Potansiyel Etkileri

Monosodyum glutamatın insan sağlığı üzerinde hem olumlu hem de olumsuz çeşitli etkilere sahip olabileceği bilinmektedir. (Zhang vd., 2020). Monosodyum glutamat tüketiminin sindirim sistemi üzerindeki etkileri incelendiğinde; bireylerin iştahını ve tat hafızasını; ağız, mide ve pankreatik kanalda daha fazla saliva, endokrin ve ekzokrin sıvı salgısını etkileyerek sindirimi iyileştirdiği; insanlarda enerji metabolizmasını etkilemeden yüksek proteinli besinlerin tüketimini artırdığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2020). Yaşlılarda umami tadın algılanmasının azaldığı, bunun da iştah ve vücut ağırlığı kaybı ile genel sağlık durumunda kötüleşme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Umami tat uyarımı ile tedavi sonucunda ise bu belirtiler düzelmektedir (Dermiki vd., 2015; Sasano vd., 2014; Tomoe vd., 2009). Bunlara ek olarak, bağırsaktaki glutamat metabolizması duodenumdaki asidin yarattığı hasara karşı mukozal savunmayı artırmaktadır. Glutamat, bağırsak mukozasında glutatyon ve diğer amino asit türlerinin üretimi için kullanılır (Reeds vd., 2000). Sıçan duodenumunda yapılan deneyler, glutamatın bağırsak mukozasındaki reseptörleri ve aferent sinirleri aktive ederek bağırsak savunma yeteneğini artırabileceğini göstermiştir (Akiba vd., 2009). Sıçanlarda yapılan farklı çalışmalar MSG'nin ince bağırsak üzerinde iyileştirici etkiler de gösterdiğini ortaya koymuştur (Amagase vd., 2015).

Monosodyum glutamat, bireylerin tuz tüketimlerini azaltmaya yönelik stratejilerde yer almaktadır. Tuz (NaCl) ile karşılaştırıldığında MSG'nin sodyum içeriği düşük kalmaktadır. Ek olarak, fazla miktarda MSG'nin umami tadını daha fazla artırmaması ve aksine istenmeyen bir hisse yol açması nedeniyle besinlerde kullanılabilecek MSG miktarı kendi kendini sınırlamaktadır (Jinap & Hajeb, 2010). Yapılan çalışmalarda da lezzeti iyileştirmesi sonucu MSG'nin tuz ihtiyacını ve tüketimini azalttığı bildirilmiştir (Ando, 2020; Hayabuchi vd., 2020). Tuz tüketimini azaltma potansiyelinin yanısıra MSG ilavesi ile yağ azaltmış besinlerin lezzet kaybının telafi edildiği ve diyetle yağ alımının azaldığı gösterilmiştir (Bellisle, 2008; Imada vd., 2014a; Miyaki vd., 2016).

Çeşitli kültürlerde halihazırda yaygın kullanımı MSG'yi mikrobesein ögesi zenginleştirmeleri için de uygun bir araç haline getirmektedir. Birleşmiş Milletler Çocuk Fonu ve Nijerya Federal Hükümeti gizli açlıkla savaşta mikro besin ögesi eksikliklerinin giderilmesinde MSG'yi potansiyel bir besin aracı olarak göstermiştir (Henry-Unaeze, 2017). Filipinler'de yapılan bir çalışmada, A vitamini ile güçlendirilmiş MSG kullanımının çocuk mortalitesi üzerinde olumlu etkileri olduğu, çocukların büyümeleri ile hemoglobin seviyelerini iyileştirdiği gösterilmiştir (Allen, 2006)

Potansiyel faydalı etkilerinin yanı sıra MSG'nin sağlık üzerinde olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Yapılan prelinik çalışmalarda, MSG uygulaması kalp dokusunda biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerin yanı sıra kalp ritmindeki değişiklikler (Abdel Baky vd., 2009; Kumar ve Bhandari, 2013; Liu vd., 2013), fibrozis ve neoplastik değişiklikler sonucu hepatotoksik etkiler (Collison vd., 2012; Eweka vd., 2011; Onyema vd., 2006), metabolik değişiklikler ve obezite (Diniz vd., 2005; Hirata vd., 1997), nörotoksosite (Izumi vd., 2009; Rivera-Cervantes vd., 2015; Viswanatha Swamy vd., 2013; Weil vd., 2008), artan saldırganlık, lokomotor aktivitede azalma ve kas gücü kaybı gibi değişmiş davranışsal ve fizyolojik değişiklikler (Campos-Sepulveda vd., 2009), nöronal redoks homeostazında (lipid peroksidasyon seviyelerinde artış, nitrit konsantrasyonu, antioksidan seviyelerinde azalma) ve hipokampusün nöronal histolojisinde önemli değişikliklerin yanı sıra beyin ve serum kolinesteraz seviyelerinde artış da rapor edilmiştir (Onaolapo vd., 2016; Sadek vd., 2015). Yeterli kontrol gruplarının olmaması, örneklem büyüklüğünün yetersizliği, yöntemdeki sorunlar, belirlenen müdahale dozunun sağlanamaması, alım yolu ve dozunun insan diyetinden yansıtılmaması nedeniyle prelinik çalışmalarda bildirilen bu olumsuz etkiler tartışmalıdır (Zanfirescu vd., 2019).

Monosodyum glutamat tüketiminin sağlık üzerindeki etkilerine yönelik klinik ve epidemiyolojik çalışmalar ise ağırlıklı olarak iştah, besin alımı ve vücut ağırlığı artışına ilişkin olup diğer çalışmalarda da MSG duyarlılığı, ağrı ve atopik dermatit semptomlarına ilişkin etkiler bildirilmiştir (Zanfirescu vd., 2019). Monosodyum glutamat alımının iştahı etkileyerek abdominal obeziteyi indükleyebileceği önerilmiştir (Hermanussen ve Tresguerres, 2003). Düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında yemeğin lezzetini artırması nedeniyle tokluğu azaltması beklenen MSG'nin spesifik tada maruziyet sonucu duyu-spesifik olarak doygunluk geliştirdiği bildirilmiştir (Zanfirescu vd., 2019). Yemek ile birlikte MSG tüketiminin toplam enerji alımı üzerindeki etkisi çelişkilidir (Carter vd., 2011; Imada vd., 2014; Luscombe-Marsh vd., 2008, 2009). Kısa süreli ve subkronik toksisite çalışmalarında oral MSG alımının (450-6000 mg/kg vücut ağırlığı) vücut ağırlığı, besin alımı ve adipozite üzerinde etkisinin olmadığı; gavaj veya enjeksiyon yöntemi ile yüklü oral doz alımında ise (17.600/100.000 mg/kg vücut ağırlığı) vücut ağırlığında ve besin alımında artış olduğu; kronik toksisite çalışmalarında ise oral olarak 120 mg/kg MSG alımının vücut ağırlığında artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Gelişimsel ve prenatal toksisite çalışmalarının bazılarında artmış yağ depolanması ile gecikmiş ağırlık kazanımı ve büyüme görölürken, bazı çalışmalarda bir etki görölmemiştir. İnsan çalışmalarında akut alımın sonuçlarının çelişkili olduğu, uzun süreli maruziyetin (10 gün–2 ay) ise artmış vücut ağırlığı ve besin alımı ile ilişkili olduğu görölmemektedir. Monosodyum glutamatın vücut ağırlığı ve adipozite artışı üzerindeki etkileyen epidemiyolojik çalışmaların sonuçları ise çelişkili olmakla birlikte metabolik sendromda artmış risk olduğu bildirilmiştir (Tabbal, 2022). Monosodyum glutamatın artmış obezite ile olan ilişkisine dair insan verilerinin hayvan çalışmalarının sonuçlarına paralel olması ileri incelemelerin gerekliliğini göstermektedir.

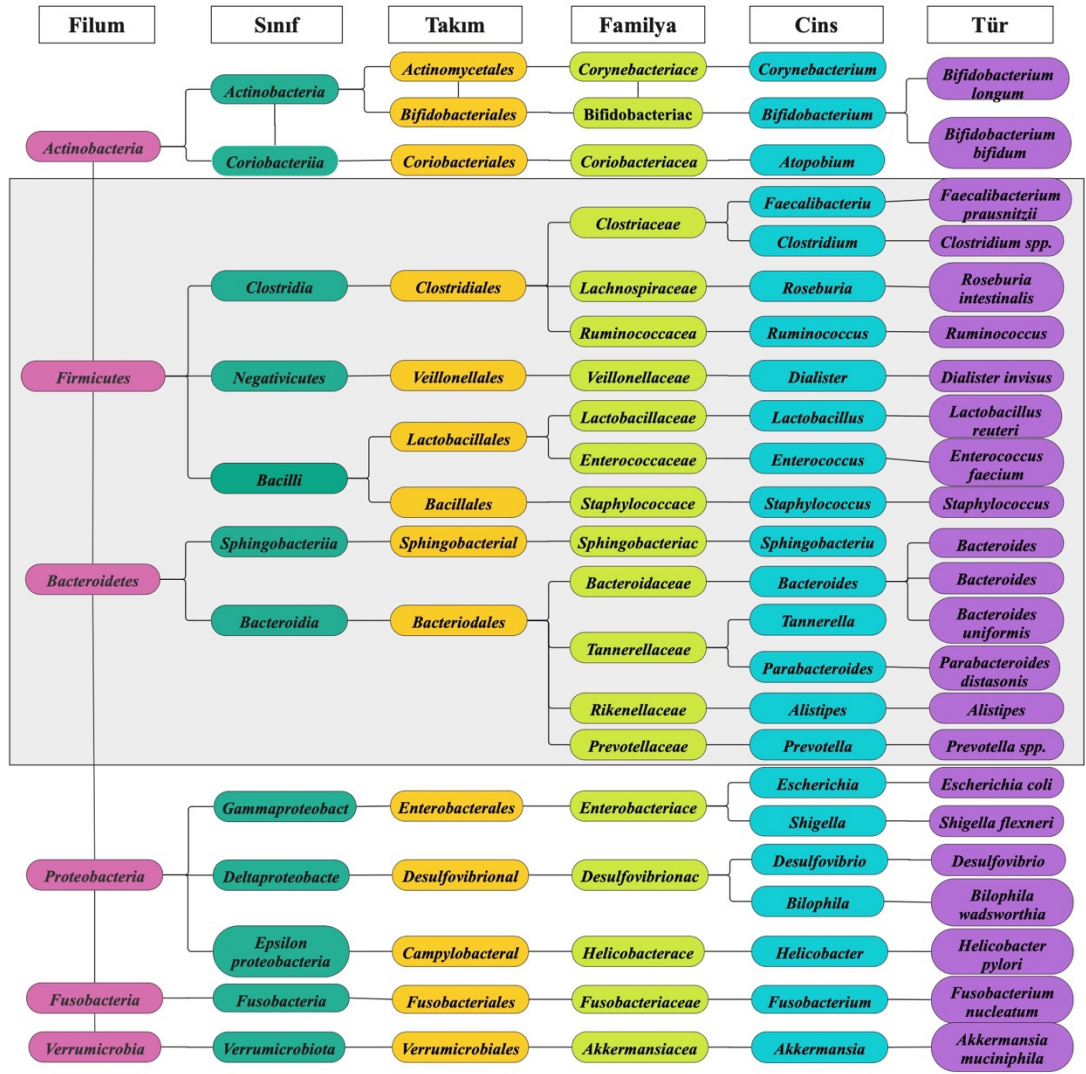
1.2. Bağırsak Mikrobiyotası

Vücutun belirli bir bölgesinde (bağırsak, cilt, akciğer, ağız boşluğu gibi) bulunan yüksek sayıdaki bakteri, maya ve virüsler dahil mikroorganizmalar bütünü mikrobiyota olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyotada yer alan tüm mikroorganizmalara ait genomların toplamına ise mikrobiyom adı verilmektedir. Mikrobiyom mikroorganizmalara ek olarak mikrobiyal yapı unsurlarını, metabolitleri ve çevresel koşulları da kapsamaktadır (Hou vd., 2022).

Bağırsaklarda yer alan bakteriler, virüsler, protozoalar ve mantarlar bağırsak mikrobiyotası olarak adlandırılmaktadır (Naimi vd., 2021). Bakteriler taksonomik olarak filum, sınıf, takım, ailya, cins ve türlere göre sınıflandırılır (Rinninella vd., 2019). İnsan

mikrobiyotası temel olarak beş bakteri filumundan oluşmaktadır: *Firmicutes* (%60-80, sınıflar: *Clostridia*, *Bacilli* ve *Negativicutes*), *Bacteroidetes* (%20-40, sınıflar: *Bacteroidia*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteria* ve *Cytophagia*), *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* ve bir *Archaea* filumu olan *Euryarchaeota*. Bağırsak mikrobiyotasında sınırlı anaeroblar genellikle (*Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Peptococcus*, *Fusobacterium* ve *Bifidobacterium* gibi) fakültatif anaerobik cinslere (*Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Proteus* ve *Klebsiella* gibi) üstün gelmekte olup; *Cyanobacteria*, *Fusobacteria* ve *Spirochaetaceae* ise daha az baskındır (Malesza vd., 2021). İnsan bağırsak mikrobiyotasında taksonomik birimlerin örnek dağılımı Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Şekilde işaretlenen alanda yer alan *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumları bağırsak mikrobiyotasının %90'ını oluşturmaktadır (Rinninella vd., 2019).





Şekil 1.1. Bağırsak mikrobiyotası örnek filum, sınıf, takım, familiya, cins ve tür dağılımı (Rinninella vd., 2019)

Bilimsel veriler çoğu bireyde mevcut olan ve zaman içinde varlığını koruyan temel bir bağırsak mikrobiyotası olduğuna işaret etmektedir. Bu temel mikrobiyota üyeleri zaman içinde dalgalanmalar gösterebilmekle birlikte bağırsakta varlığını korur ve sağlıklı bir mikrobiyotanın sürdürülmesi sayesinde sağlığın da devamlılığını sağlar (Fassarella vd., 2021). Bağırsak mikrobiyotası, bağırsak kanalında konakçıyla karşılıklı fayda sağlayan bir ilişki içinde bulunur ve bağışıklık sisteminin gelişimi ile düzenlenmesinin yanı sıra çeşitli karmaşık metabolik süreçlere katılarak konağın çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal işlevleri tamamlamasına yardımcı olur (Belkaid ve Hand, 2014; Krishnan vd., 2015). Bağırsak mikrobiyotasının görevleri arasında besinlerin emilimi ve fermentasyonu, metabolik işlevleri yönetme, bağışıklık sisteminin devamlılığını sağlama, patojen enfeksiyonlarına karşı koruma, polifenollerin emilimi ve vitamin üretimi yer almaktadır (Hou vd., 2022; Mariat vd., 2009;

Naimi vd., 2021; Selma vd., 2009). Bu nedenle, karmaşık bir mikrobiyal ekosistem olarak bağırsak mikrobiyotası konakçı sağlığı ile yakından ilişkilidir (Clemente vd., 2012). Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasının bileşimi küresel olarak tanımlanmamış olsa da çeşitli ve dengeli bir insan bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığının önemli bir göstergesi olabileceği konusunda fikir birliği mevcuttur (Bäckhed vd., 2012).

Sağlıklı bireylerde bulunan bakteri topluluklarının değişimi ve bağırsak homeostazısının bozulması olarak tanımlanabilecek olan disbiyozis kavramı üzerinde ise hala bir fikir birliği sağlanamamıştır (Brüssow, 2020). Sağlıklı mikrobiyota, sağlıklı insan ve hayvanlar ile yapılan çalışmalarda mikrobiyotada ortak olarak yer aldığı görülen bakteri türleri üzerinden tanımlanmaktadır (Petersen ve Round, 2014). Bağırsak homeostazı ise bağırsak epitel bariyeri, bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık sistemi ve sindirim işlevinden sorumlu enterik sinir sistemi arasındaki karmaşık etkileşimler tarafından hassas bir şekilde düzenlenen bir denge halidir (Maloy & Powrie, 2011). Bu doğrultuda disbiyozis durumu; inflamatuvar kronik hastalıklar, metabolik bozukluklar, diyabet ve kardiyovasküler hastalık riski, obezite ve nörolojik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Cao vd., 2020; Kopp, 2019; Naimi vd., 2021).

Bağırsak homeostazı şu şekilde sağlanır; ince bağırsak lümeninde oksijen seviyeleri korunur böylece solunum yapan bakteriler mikrobiyota baskın hale geli; kalın bağırsakta ise hipoksik bir ortam söz konusudur ve bu durum da fermentasyon yapan bakterilerin çoğunluğu ile sonuçlanır. Bakteri solunumu fermentasyondan daha fazla enerji eldesi ile sonuçlanmaktadır. Ortamda oksijen bulunması halinde solunum yapan bakteriler çoğunluk sağlayacaktır. Konakçının bu mekanizmanın üzerindeki kontrolünün zayıflaması disbiyozis ile sonuçlanabilmektedir. Kolondaki bakteriler için oksijen kullanılabilirliğini sınırlayan konakçı kontrol mekanizmalarının kolorektal kanser, ülseratif kolit, antibiyotik tedavisi veya enterik enfeksiyon fare modellerinde zayıfladığı gösterilmiştir. Oksijen mevcudiyetinde ortaya çıkan artış, kolonik mikrobiyotada oksijenli solunum yapan bakterilerin bolluğunu artırır (Lee vd., 2022).

Bağırsak mikrobiyotasının istikrar ve dayanıklılığı için mikrobiyoal çeşitlilik de büyük önem arz etmektedir. Mikrobiyoal çeşitlilik çeşitli seçici baskılar ile konakçı tarafından kontrol edilmektedir (Flint vd., 2017). Yüksek mikrobiyal çeşitlilik, genellikle yaşanan bozulmalar sırasında mikrobiyota işlevlerini dengeleyici bir rol oynar ve böylece dayanıklılığı destekler. Mikrobiyotada benzer rollere sahip mikroorganizmaların bir arada bulunması konakçı için olumlu olabilir. Bu farklı mikroorganizmalar aynı faydayı sağlayarak faydalı bir

türün kaybını telafi edebilir. Bileşimsel açıdan farklılık gösteren iki mikroorganizma topluluğu, işlevsel açıdan çok benzer şekilde davranabilir, birbirini karşılayacak protein ve metabolit profilleri ortaya çıkarabilir (Fassarella vd., 2021).

Bağırsak mikrobiyotasının bileşimsel ve işlevsel özellikleri kapsamlı bir şekilde incelenmiş olsa da, bu karmaşık ekosistemi kontrol eden mekanizmalar hakkındaki anlayış hala sınırlıdır (Huttenhower vd., 2012). Kontrol mekanizmalarına ilişkin önemli bir nokta kararlı mikrobiyotadaki değişimlerin kararlı ve kararsız durumlar arasındaki hareketidir. Değişimlerin kademeli geçişler şeklinde veya alternatif kararlı durumlar arasında ani geçişler yoluyla meydana gelmesinin tespiti noktasında araştırmalar devam etmektedir. Değişim noktaları (tipping points) ile ayrılan alternatif kararlı durumlar kavramı ekolojide teorik bir çerçeve olarak halihazırda kabul edilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının farklı durumlara geçişini gösteren değişim noktaları kavramı ise henüz net değildir. Mikrobiyotadaki bozulmaları takiben stabil sağlıklı durumlara geçişi işaret eden kritik değişim noktaları yeni aydınlatılmaya başlanmıştır (Lahti vd., 2014).

1.2.1. Yaşamın İlk Yıllarında Bağırsak Mikrobiyotasının Şekillenmesi

Bağırsak mikrobiyotası büyük oranda iki ile üç yaşları arasında şekillenmekte ve olgunlaşmaktadır. Bağırsakta bulunan mikrobiyotaya atfedilen başlıca işlevler yaşamın ikinci yılının sonunda ortaya çıkmaya başlar (Mariat vd., 2009). Yaşamın ilk 1000 gününde bağırsak mikrobiyotasının gelişimini etkileyen önemli faktörler doğum şekli, erken beslenme (anne sütü veya mama), bebeğin ve annenin antibiyotiklere maruz kalması, probiyotik kullanımı, doğumdan sonraki ev ortamı, doğumdaki gebelik yaşı, coğrafi konum, etnik köken ve katı gıdalara başlanmasıdır (Homann vd., 2021).

Yaşamın ilk üç yılına kadar hızla artış gösteren bağırsak mikrobiyota çeşitliliği sonrasında yavaşlar (Yatsunenkov vd., 2012; Vatanen vd., 2016) ve beş yaşına kadar bağırsak mikrobiyomunun bileşimi, en azından kısmen, istikrarlı bir şekilde korunan *Bacteroides*'in büyük bir oranına atfedilebilecek şekilde daha istikrarlı hale gelir. Bununla birlikte, çocuklarda bağırsak mikrobiyomu sağlıklı yetişkinlerinkinden daha az çeşitlidir ve işlevsel olarak farklıdır (Cheng vd., 2016). Bağırsak mikrobiyotası karmaşıklığı (takson ve fonksiyonel gen sayısı) tipik olarak ergenlik öncesi dönemde (7-12 yaş) yetişkin seviyelerine ulaşır, ancak bu yaştaki mikrobiyal topluluklar, nispeten daha düşük *Bacteroides* ve daha yüksek *Bifidobacterium* seviyeleri ile taksonomik ve fonksiyonel olarak yetişkinlerin sahip olduğu

mikrobiyotasından farklı kalır (Hollister vd., 2015). Yetişkin dönemde sağlıklı bir insanda genellikle sadece iki bakteri filumu baskındır: Firmicutes ve Bacteroidetes (Odamaki vd., 2016). Üç yaş sonrasında yetişkinliğe kadar olan döneme ait mikrobiyota analizi verileri kısıtlıdır (Derrien vd., 2019). Bir adölesanın bağırsak mikrobiyota bileşimi, oldukça çeşitli ve istikrarlı olan bir yetişkine kıyasla genellikle daha basit ve daha istikrarsızdır. Bu farklılıklar muhtemelen ergenlik döneminde bağırsak mikrobiyotasının nispeten olgunlaşmamış olmasından kaynaklanmaktadır; bu da enfeksiyon, antibiyotik kullanımı ve sağlıksız beslenme gibi çevresel faktörlere karşı daha savunmasız hale getirmektedir. Ek olarak, ergenlik döneminde gonadal hormonlar en yüksek seviyededir ve bunun mikrobiyota çeşitliliği üzerinde uzun vadeli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bağırsak mikrobiyota bileşimindeki değişiklikler çeşitli hastalıkların başlangıcına katkıda bulunabilir ve bu süreçte biyoterapötikler, antibiyotikler veya farklı diyet türleri etkili olabilir. Bununla birlikte, ergenlik döneminde bağırsak mikrobiyota manipülasyonunun sonuçları henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Lach vd., 2020). Mikrobiyotada görülen tüm bu gelişim sürecince artan çeşitlilik uygun gelişim için gerekli ve genel sağlık için önemlidir (Mariat vd., 2009).

1.2.2. Diyetin Mikrobiyota Gelişimi ve Değişimi Üzerindeki Etkisi

Diyet de dahil olmak üzere çevresel etkenlerin bağırsak mikrobiyotasını şekillendirmede genetik faktörlere kıyasla daha baskın olduğu gösterilmiştir (Rothschild vd., 2018). Diyet, hem bebeklik döneminde hem de yetişkinlik döneminde bağırsaktaki mikrobiyal toplulukların taksonomisini ve işlevini etkiler (Cao vd., 2020; Homann vd., 2021).

Batı diyetinin yaygınlaşmasıyla ilişkili olarak besin işleme ve beslenme alışkanlıklarındaki değişim uzun süredir gözlenmektedir. Batı diyetinde temel olarak; rafine ve modifiye edilmiş gıda bileşenleri, hidrojenize edilmiş veya edilmemiş yağlar, şekerler ve tatlandırıcılar, modifiye edilmiş nişasta, işlenmiş proteinler ve çeşitli gıda katkı maddeleri gibi içeriklerle enerji içeriği ve lezzetini artırırken, besin ögesi içeriğini zayıflatan içeriklerin kullanıldığı besinler yer almaktadır (Illikoud vd., 2022; Laudisi vd., 2019). Bu besinlerin yer aldığı bir diyet beslenmede belirgin değişikliklere yol açmaktadır. Posa içeriği azalmakta, vitaminlerin alımı eksik kalmakta; doymuş yağ asitleri, şekerler ve gıda katkı maddelerinin alımı artmaktadır. Tüm bu değişimler sağlığı etkilemekte ve özellikle bağırsak homeostazını bozabilmektedir (Illikoud vd., 2022)

Çocuklar ile gerçekleştirilen çalışmalarda yaşam tarzındaki farklılıkların ve özellikle Batı yaşam tarzının bağırsak mikrobiyotası kompozisyonunu önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir. Kırsal bölgelerde yaşayan çocuklarda fermente posa ve sebze polisakkaritleri tüketimine bağlı kendine özgü bir çeşitlilik (*Prevotella*, *Treponema*, *Succinivibrio*) gözlemlenirken kent alanlarındaki çocukların mikrobiyotasının diyetlerinde yer alan protein, yağ ve şekerden zengin besinlere göre şekillendiği ve kısa zincirli yağ üretiminin azaldığı bildirilmiştir (De Filippo vd., 2017).

1.2.3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Hastalıklar Arasındaki İlişki

Bağırsak mikrobiyotası, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) ve çeşitli psikiyatrik bozukluklar gibi bir dizi insan hastalığında önemli bir rol oynamaktadır (Roca-Saavedra vd., 2017). İnsan vücudu ile mikrobiyomu arasında karmaşık bir simbiyotik ilişki vardır ve bunun bozulması her ikisi üzerinde de zararlı etkilere neden olabilir (Gomaa, 2020). Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen disbiyoz çeşitli hastalıkların gelişimi ile ilişkilendirilebilir. Mikrobiyom birçok mekanizma aracılığıyla bu gelişimde etki gösterebilir. Bu mekanizmalar arasında genel topluluk yapısı (genellikle alfa-çeşitlilik ile ölçülür) veya popülasyonlar arasındaki ekolojik uzaklıklar (beta-çeşitlilik); belirli taksonların varlığı, yokluğu veya bolluğu ile mikrobiyal moleküler fonksiyonların işlediği yollar yer alır. Ek olarak; mevcut mikrobiyotanın ilgili genlerinde, fonksiyonlarında veya biyokimyasal yan ürünlerinde değişim üzerinden de etki göstermesi mümkün olabilir (VanEvery vd., 2022).

Bağırsakta bulunan mikroorganizmalar insan sağlığını etkileyebilecek çok sayıda biyoaktif bileşik üretir. Ürettikleri bazı ürünler konağa faydalıdır, ancak diğer farklı ürünler zararlı olabilir. Örneğin kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) gibi metabolitler, bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir ve inflamasyonu azaltabilir (Koh vd., 2016; Ríos-Covián vd., 2016). Ek olarak, bağırsak mikrobiyotası bağışıklık sistemi ile etkileşime girerek bağışıklık hücrelerinin olgunlaşmasını ve bağışıklık fonksiyonlarının normal gelişimini teşvik etmek için sinyaller sağlar (Belkaid ve Hand, 2014). Bu bağlamda, bağırsak mikrobiyotası bağırsak epitelinin bütünlüğünün korunmasına, hücrelerarası bağlantılarının korunmasına, yaralanma sonrası epitel onarımının desteklenmesine ve enterosit döngüsünün düzenlenmesine katkıda bulunur. Bu nedenle, mikrobiyotadaki dengesizlik, düşük kronik inflamasyon ve metabolik bozuklukların ilerlemesine katkıda bulunabilecek pro-inflamatuar bir lümenal ortamla sonuçlanabilir (Roca-Saavedra vd., 2017).

Farklı bireyler arasındaki mikrobiyal popülasyon çeşitliliğinin karşılaştırılması, bunların farklı patolojik durumlarla ilişkisinin belirlenmesine yol açmıştır. Bu tür birçok çalışma, bir dizi mikrobiyal türün varlığı veya yokluğu ile hastalık arasındaki ilişkileri tanımlamakta ve ayrıca disbiyoz ile çeşitli patolojik durumların etiyolojisini birbirine bağlayan hipotezlerin oluşturulmasına yardımcı olmaktadır (Gomaa, 2020).

Gilbert vd. (2016) mikrobiyotaya-hastalık ilişkilerini üç kategoriye ayırmıştır: öngörülebilir ilişkiler (örn. irritabl bağırsak sendromu (İBS), inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH)), ilgi çekici ilişkiler (ör. obezite, kardiyovasküler hastalık, kolon kanseri, romatoid artrit) ve şaşırtıcı ilişkiler (ör. majör depresyon, Parkinson hastalığı, otizm), ki bunlar aynı zamanda mikrobiyotanın hastalıklara nedensel olarak dahil olma olasılığının derecelerini veya araştırma verilerinin klinik uygulamaya dönüştürülmesi için gereken süreyi de temsil edebilir (Brüssow, 2020). Mikrobiyotadaki değişimler ile çeşitli metabolik değişiklikler ve hastalıklar arasındaki ilişki Çizelge 1.1’de özetlenmiştir. Çizelgede belirtilen tüm hastalıklar mikrobiyotaya çeşitliliği ve mikrobiyotaya metaboliti olan KZYA ile negatif ilişkilidir. Kardiyovasküler hastalıklar mikrobiyotaya metaboliti olan trimetilamin-N-oksit (TMAO) ile; NAFLD ise TMAO, lipopolisakkarit (LPS) ve asetat ile pozitif ilişkilidir (Vijay & Valdes, 2022).

Çizelge 1.1. Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve hastalıklar arasındaki ilişki.

Hastalık	Bağırsak Mikrobiyotası	
	Negatif İlişki	Pozitif İlişki
Romatoid artrit	<i>Faecalibacterium</i> sp.	<i>Prevotella copri</i> <i>Colinsella</i>
Tip 1 DM	<i>Faecalibacterium</i> sp.	<i>Bifidobacterium. adolescentis</i> <i>Bacteroides</i>
Egzema	<i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroidetes</i> <i>Bacteroides</i>	<i>Clostridia</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Astım		<i>Proteobacteria</i>
İBH	<i>Roseburia</i> sp. <i>Faecalibacterium</i> sp.	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Ruminococcaceae</i> <i>Clostridium</i>
İBS	<i>Bifidobacterium</i> <i>Faecalibacterium</i> sp.	<i>Ruminococcus</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Dorea</i>
Kardiyovasküler hastalık	<i>Akkermansia muciniphila</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
Tip 2 DM	<i>Akkermansia muciniphila</i> <i>Faecalibacterium</i> sp. <i>Bifidobacterium</i>	<i>Ruminoccus</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Blautia</i>
NAFLD	<i>Faecalibacterium</i> sp. <i>Coprococcus</i> <i>Prevotella</i>	<i>Proteobacteria</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Colinsella</i> sp.
Kronik böbrek hastalığı	<i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Pretovellaceaea</i>	<i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>
Ruhsal hastalıklar	<i>Bacteroidetes</i> <i>Actionobacteria</i> <i>Prevotella</i> <i>Bacteroides</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroidaceae</i> <i>Eghertella</i> <i>Blautia</i>

1.2.4. Monosodyum Glutamatın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerindeki Etkileri

Monosodyum glutamat tüketiminin mikrobiyota üzerindeki etkisini inceleyen çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Büyümekte olan domuzlarda yağ içeriği yüksek ve/veya MSG içeren diyet ile müdahale sonucunda her iki etkenin de bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu değiştirdiği; MSG'in mikrobiyotada *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Roseburia* türlerinin kolonizasyonunu artırdığı tespit edilmiştir (Feng vd., 2015). Hamsterlar üzerinde yürütülen bir çalışmada MSG, yüksek yağ ve yüksek fruktoz içeren diyetin, yalnızca MSG veya yalnızca yüksek yağ ve yüksek fruktoz içeren diyetle kıyasla daha yüksek *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Pongking vd., 2020b). Yetişkin Wistar ratlar ile yürütülen bir çalışmada, iki hafta boyunca içme sularına %1 oranında MSG eklenen ratlardan alınan dışkı numunelerinin analizi sonucunda *Firmicutes*'in arttığı ve *Bifidobacterium* türlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak bağırsak mikrobiyotası üzerinde yarattığı etkiler ile trimetilamin (TMA) ve TMAO gibi metabolitlerin MSG'nin böbrek üzerindeki etkilerinin potansiyel aracıları olduğu ileri sürülmüştür (Nahok vd., 2021). İnsanlar üzerinde yürütülen dört haftalık bir müdahale çalışmasında ise belirli bakteri türlerinde değişim olmakla birlikte anlamlı bir farklılık saptanmadığı bildirilmiştir (Peng vd., 2018). MSG'nin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini inceleyen çalışma sayısının kısıtlı olması ve bu çalışmalarında deney modeli, kullanılan MSG dozu, veriliş yolu ve incelenen mikrobiyota parametrelerinin birbirinden farklı olması sonuçların karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenlerle daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulduğu açıktır.

1.3. Probiyotikler

Probiyotikler FAO/WHO tarafından 'Yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar' şeklinde tanımlanmaktadır (Araya vd., 2002). Probiyotikler besin ve takviyeler ile alınabilmektedir. Probiyotik tüketimi bağırsak mikrobiyotasının bileşimini olumlu yönde etkileyebilir ve farklı bağışıklık hücreleriyle etkileşime girerek bağışıklık fonksiyonlarını iyileştirebilir. Bu nedenle probiyotiklerin sağlığı geliştirici ve immünomodülatör özellikleri olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Bu mikroorganizmalar çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasını önlemede oldukça güvenilir olup probiyotik tüketimi hastalık yönetimi için uygun maliyetli alternatif çözümler sağlayabilir (Mazziotta vd., 2023)

Bir probiyotiğin etkili kabul edilebilmesi için gastrointestinal kanalda hayatta kalma kapasitesine sahip olması, midenin düşük pH'ına direnç göstermesi, antibiyotik direnç genlerinden yoksun olması ve konakçıya net bir fayda sağlaması gerekir (Plaza-Diaz vd., 2019). Çeşitli bakteri suşlarının farklı gastrointestinal hastalıkların (salmonellosis, turist diyaresi, antibiyotik ilişkili diyare, akut diyare, *Helicobacter pylori* kaynaklı gastroenterit, İBS, İBH), hiperlipidemi ve hiperkolesterolemi, kanser, laktoz intoleransı, otoimmün hastalıklar, kemik hastalıkları, nörodejeneratif ve metabolik hastalıkların önlenmesi ve tedavisine yönelik olarak probiyotik alımının önemine ilişkin çalışmalar yürütülmüştür (Aponte vd., 2020; McFarland, 2015).

Probiyotikler uzun yıllardır fermente besinlerde güvenle kullanılmaktadır (Bermudez-Brito *et al.*, 2012). Ulusal Probiyotik ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği'ne (ISAPP) göre fermente besin, "istenen mikrobiyal büyüme ve besin bileşenlerinin enzimatik dönüşümleri yoluyla yapılan besinler" olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte tüm fermente besinler probiyotik değildir. Besinlerin probiyotik olarak tanımlanabilmesi için FAO/WHO tarafından yapılan ve ISAPP tarafından kabul gören probiyotik tanımına uyması, yani sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar içermelidir. Sağlık faydası, en azından kısmen, canlı mikroorganizmalara bağlı olmalı ve besin matrisinin herhangi bir besinsel faydasının ötesine geçmelidir (Marco vd., 2021). Probiyotiklerin fermente besinlerde süregelen güvenli kullanımı ile birlikte probiyotiklerin kullanımına ilişkin yürütülen yeni çalışmalar endüstrinin de probiyotik kullanımına ilgisini artırmıştır (Bermudez-Brito *et al.*, 2012). Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalar *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* spp., *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*), *E.coli* Nissle 1917 ve bir maya olan *Saccharomyces boulardii*'dir (Suez vd., 2019).

Endüstride sık kullanılan probiyotiklerden biri olan *Lactobacillus*, çubuk şeklinde, gram-pozitif, spor oluşturmayan, *Firmicutes* filumuna ait fakültatif anaerobik bir cinstir. *Lactobacillus* karbonhidratları metabolize ederek laktik asit üretir ve bu da onları laktik asit bakterileri (LAB) grubundaki en büyük cins yapar (Dempsey ve Corr, 2022). *Lactobacillus* türlerinin başlıca kullanım alanları fermente süt, et veya sebze gıdaları ile ekşi mayalı ekmeklerin üretim sürecidir ve aynı zamanda probiyotik, yani yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. *Lactobacillus* türleri diğer bakteri türlerine göre genomik açıdan daha iyi karakterize edilmiş, hem de sağlık ve hastalık açısından insanlarla etkileşimleri kapsamlı incelenmiştir. Bu özellikler *Lactobacillus* türlerini ideal probiyotik adayları haline

getirmektedir. Başlıca probiyotik *Lactobacillus* türleri ise şunlardır: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri* ve *Lactobacillus rhamnosus*. *Lactobacillus* türlerinin potansiyel sağlık yararlarına ilişkin çok sayıda araştırma bulunmaktadır, kanıtlar bu probiyotik bakterilerin birçok özelliğinin hem türe hem de suşa bağlı olduğunu göstermektedir (Dempsey ve Corr, 2022).

1.3.1. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) yüzyıllardır sütü fermente etmek için kullanılmakta olup fermente süt ürünlerinde en yaygın kullanılan probiyotiktir (Qiu vd., 2021). Bulgaristan'da izole edildiği bölgede yaşayan popülasyonun oldukça uzun ömürlü olduğu bilinmektedir (Moro-Garcia vd., 2013). *L. Bulgaricus*, Elie Metchnikoff'un 1905 yılında yoğurt bakterilerinin üretilmesi ve kullanımıyla sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratabileceğini öngörmesi ile birlikte bir diğer yoğurt bakterisi olan *Streptococcus thermophilus* (*S. Thermophilus*) ile probiyotik çalışmalarının başlangıç noktasında yer almıştır (Metchnikoff, 1908). *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* Codex Alimentarius tarafından yoğurt üretimi için iki standart bakteri türü olarak gösterilmiştir (Codex Alimentarius, 2018). Yoğurt geleneksel olarak bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere neden olabilen ve sonuç olarak çeşitli sağlık faydalarını teşvik eden probiyotik taşıyıcı bir besin olarak kabul edilmektedir (Vázquez vd., 2013). Fermente süt ürünlerinde bulunan başlıca probiyotik suşlardan biri olan *L. bulgaricus*'un domuzlarda bağırsak bağırsıklığını modüle etme, bağırsak mikrobiyal çeşitliliğini artırma, büyüme performansını teşvik etme ve hatta domuzlarda hastalık başlangıcını önleme üzerinde çok yönlü yararlı etkiler gösterdiği gösterilmiştir (Luo vd., 2024; Mo vd., 2019).

1.3.1.1. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un Sindirim Sisteminde ve Üretim Süreçlerinde Sağkalımı

L. bulgaricus doğasının yeterince anlaşılamaması, çevre koşullarına görece hassasiyeti, bağırsaklarda kolonizasyon sağlayamadığına dair veriler, sindirim sisteminde tespitinin zorluğu ve incelik gerektirmesi, dolayısıyla sağkalım ve çoğalma kabiliyeti

konusundaki çelişkili sonuçlar nedeniyle probiyotiklere yönelik güncel çalışmalarda geri planda kalmıştır (Vázquez vd., 2013). *L. bulgaricus*'un insan bağırsağında proliferasyonu ve sağkalımını ilişkin farklı sonuçlar mevcuttur (Del Campo vd., 2005; García-Albiach vd., 2008). Yoğurt ve yoğurt bakterilerinin mikrobiyota üzerindeki etkilerine ilişkin çalışma sonuçları arasındaki farklılıklar bakteri tespitinde kullanılan yöntemler, incelenen insan popülasyonunun özellikleri, yoğurt üretim süreci, uygulama miktarı ve süresi gibi çeşitli faktörlere bağlanabilir. Simüle edilmiş mide ve bağırsak ortamlarında, simüle edilmiş mide suyu, simüle edilmiş bağırsak suyu ve safra tuzu ile muamele edilen *L. bulgaricus*'un hayatta kalma oranları sırasıyla %79,4, 13,6 ve 7,5 olmuş; simüle edilmiş bağırsak ve mide suyunu tolere edebilmiştir (sağkalım sayıları $>10^6$ kob/ml). Çalışmada *L. bulgaricus*'un fare bağırsak mukusuna yapışma kabiliyetinin olmadığı bulunmuştur. Ortama prebiyotik ilavesi ise çoğalmayı teşvik edilmiştir (Li, 2019). Ek olarak, laboratuvar ortamında mide ve bağırsak özsuyuna maruz bırakılan enkapsüle *L. bulgaricus*'un da hayatta kaldığı gösterilmiştir (Vodnar vd., 2010). Yoğurt tüketimi sonucunda bireylerin dışkı örneklerinde *L. bulgaricus* varlığının gözlemlendiği bildirilmiştir (Elli vd., 2006; Mater vd., 2005). *L. bulgaricus*'un gastrointestinal suda canlı kalma potansiyeli ve fermente süt tüketiminden sonra fekal numunede tespiti kültürden bağımsız birleştirilmiş bir yöntem olan direkt canlı sayımı yöntemi ve floresan in situ hibridizasyon ile birlikte incelendiğinde gastrointestinal suya direnç oranı %26,2 olarak belirlenmiş, 4 haftalık fermente süt tüketimi sonrasında ise dışkıda tespit edilememiştir (García-Hernández vd., 2012). Farklı bir çalışmada, yoğurt tüketen bireylerin dışkı örnekleri denature gradyan jel elektroforezi ile incelendiğinde yoğurt tüketmeyen bireylerden farklı olarak *L. bulgaricus*'a özgü bant varlığı tespit edilmiştir. Bireysel farklılıklar ve yoğurt tüketim süresinin bant yoğunluğunu etkilediği bildirilmiştir (Dimitro, 2019). Bu doğrultuda incelenen bakteri suşuna özgü tespit yönteminin tercihi önem teşkil etmektedir. Bununla birlikte, *L. bulgaricus* probiyotik özellikleri suşa özgü olabilir ve üst bağırsakta hayatta kalmak için genetik çeşitlilik ve ilgili çevresel koşullara direnç farklılıkları henüz araştırılmamıştır (Vázquez vd., 2013). Endüstriyel üretimde *L. bulgaricus* için dondurarak kurutma işlemi sırasında kullanılan belirli şekerlerin dondurma ve kurutma sırasında sağkalımını desteklediği, standart büyüme ortamı olarak kullanılan glikozun ise sağkalımı desteklemede en az etkili şeker olduğu gösterilmiştir olup; yetiştirme ortamına ek olarak kurutma sırasında hava sıcaklığı ve nem oranının da sağkalımı etkileyen önemli faktörler olduğu bilinmektedir (Tripathi ve Giri, 2014).

1.3.1.2. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un Potansiyel Etki Mekanizmaları

L. bulgaricus'un potansiyel bir probiyotik işlevi olduğuna dair veriler mevcuttur. Belirli ticari suşlarının yüksek hidrofobisite değerleri, β -galaktozidaz aktivitesi, iyi lizozim toleransı ve zayıf safra direnci gösterdiğini bildirilmiştir. Aynı zamanda test edilen patojenlere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ve *Salmonella enterica* serovar Enteritidis'in Caco-2/TC-7 hücrelerine invazyonunu engelleyebildiği belirtilmiştir (Guglielmotti vd., 2007). *L. bulgaricus*, ürettiği laktik asit ile aynı ortamda bulunan *E. coli*'nin bağlanma ve tutunmasını engelleyip, yer değiştirme etkisi ile antibakteriyel özellik göstermiş olup bağırsakta *E. coli* enfeksiyonuna karşı koruma sağlayabileceği öngörülmüştür (Abedi vd., 2013). *L. bulgaricus* OLL1073R-1 fermente yoğurttan elde edilen ekzopolisakkarit, farelerde doğal öldürücü hücreleri aktive eden ve dalakta IFN-g üretimini indükleyen bir immünostimülatör etkiye sahiptir (Makino vd., 2016). İki *L. bulgaricus* suşunun (*L. bulgaricus* B3 ve A13) lipid peroksidasyonunu azalttığı, antioksidan enzimlerin ölçümlerini arttırdığı ve sıçan kolit modelinde oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (Şengül vd., 2011). *L. bulgaricus*'un gavaj ile uygulandığı depresyon modeli farelerde bağırsak ve hipokampüste NLRP3, IL-1 β and TLR-4 ekspresyonunda azalma ile depresyon üzerinde iyileştirici bir etkisi olduğu görülmüştür (Qiu, 2021).

Uzun dönem LB81 yoğurt tüketen farelerde *Bacteroidetes/Firmicutes* oranında artış; *Bacteroidetes* bolluğunda artış (bütirat ve propanoat üretimi ile ilişkili) tespit edilmiştir. Fekal metabolit çıktıları bütirat ve propanoat, bağırsak metabolik yollarındaki artışı doğrulamıştır. Antimikrobiyal peptid, tight junction ve mukus ilişkili intestinal bariyer fonksiyonu gen ekspresyonlarında değişiklik gösterilmiştir (Usui *et al.*, 2018). Geleneksel Bulgar yoğurdundan izole edilen *L. bulgaricus* OLL1073R-1 suşunun yüksek miktarda bağırsıklık uyarıcı ekzopolisakkarit (EPS) ürettiği ve EPS'nin IFN- γ indüklemeye aktivitesine sahip olduğu; bu suşla fermente edilen yoğurdun oral olarak verildiği farelerde NK hücre aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (Makino vd., 2016). Patojen *E. coli* veya *S. aureus* ile birlikte *L. bulgaricus* veya *S. thermophilus* verilen farelerde probiyotik suş alan farelerin hematolojik (RBS, beyaz kan hücresi, hemoglobin, platelet sayısı, nötrofil, lenfosit, monosit, eozonofil) ve histopatolojik parametrelerinin daha iyi durumda olduğu gözlemlenmiştir (Evivie vd., 2020).

Mevcut veriler doğrultusunda *L. bulgaricus*'un potansiyel etki mekanizmaları göz önünde bulundurulduğunda bir probiyotik olarak uygun koşullarda çoğaltılması, eldesi ve işlenmesine (dondurma, kurutma vb.) ilişkin yeni çalışmalarla desteklenmesi gereklidir. Yaygın kullanılan probiyotikler için geçerli koşullar *L. bulgaricus* için uygun olmayıp, kullanılan suşlar bu nedenle sağkalım gösteremiyor olabilir. Ek olarak, bağırsakta sağkalımı ve kolonileşmesinin incelenmesi için de *L. bulgaricus* tespitine spesifik yöntemlerle ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 13.04.2022 tarih 2022-8-81 no'lu (Ek 1) kararı ile onaylanmış ve 05.04.2023 tarihli ve 2023-7-64 no'lu karar (Ek 2) ile uzatma talebi onaylanmış olan çalışma, Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında Şubat 2023 - Mayıs 2023 döneminde yürütülmüş olup 32 adet dişi ve 32 adet erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır.

Çalışmadaki kontrol ve üç müdahale grubu için gerekli minimum hayvan sayısı Şekil 2.1.'de yer alan formül ile hesaplanmış (Arifin & Zahiruddin, 2017), her grup için 3-6 adet olarak tespit edilmiştir. Dişilerin menstrual döngüleri ve hormonal seviyelerinde yaşanan değişikliklerin yarattığı farklılıkların çalışma sonuçlarını olumsuz etkileyeceği önyargısı ile çalışmaya dahil edilmemesi aslında çalışma sonuçların eksik veya yanlış olmasına neden olabilmektedir. Örneğin, obezite ile ilişkili net bir mikrobiyota profili henüz tanımlanmamış olmakla birlikte, obezite ilişkili belirli mikrobiyota ölçütleri konusunda yaygın bir fikir birliği bulunmaktadır. Obezite ile ilişkili komorbiditelerde olduğu gibi mikrobiyota üzerindeki etkileri de cinsiyete özgü özellikler göstermektedir. Geçmiş çalışmalar, dişi ve erkeklerde yağ dağılımı ile ilişkili çokluk ve çeşitlilik gibi ortak mikrobiyom özellikleri olmakla birlikte, takson dağılımları arasında farklı örüntüler olduğunu göstermiştir. Bu doğrultuda cinsiyete özgü yağ dağılımının cinsiyete özgü bir mikrobiyota dağılımı ile ilişkili olabileceği anlaşılmaktadır (Min vd., 2019; Rudyk vd., 2023). Monosodyum glutamatın etkilerini inceleyen kırk üç kısa dönem hayvan çalışmasından yalnızca on tanesi, ön dört insan çalışmasından sadece altı test her iki cinsiyeti de içermiştir (Tabbal, 2022). Bu nedenlerle çalışma, deney süresince gelişebilecek mortaliteler de göz önünde bulundurularak, her grupta 8 dişi ve 8 erkek sıçan olacak şekilde planlanmıştır.

$$n = DF/k + 1$$

n= Her grupta yer alan hayvan sayısı
DF: Serbestlik derecesi (min: 10, max: 20)
k= grup sayısı

Şekil 2.1. Örneklem büyüklüğü formülü

Sıçanlar altı haftalık olana kadar yetiştirildikten sonra (6. hafta ortalama vücut ağırlığı: 80,28 g) deney gruplarına dağıtılmıştır. Deney başlangıcındaki (T0) yaş ve vücut ağırlıkları gözü önünde bulundurulduğunda yavru sıçanlar insanlarda adölesan dönemi temsil etmektedir (Quinn, 2005; Sengupta, 2013). Adölesanlarda artan Batı tarzı diyet ile birlikte öngörülen MSG alımında artış öngörülmektedir. Ek olarak, cinsel olgunluğa geçiş döneminde vücudun endokrin ve diğer fizyolojik durumlarının büyük ölçüde değiştiği özel bir aşama olup erken risk değerlendirmesinde kullanılabilecek potansiyel biyolojik göstergelerin ipuçlarının keşfedilmesi için önem taşımaktadır (Meng vd., 2022). Cinsel olgunluk evresindeki sağlıklı bireylerde bağırsak mikrobiyotasının dinamik değişimlerini ve MSG ile *L. bulgaricus* müdahalesinin bu değişim üzerindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

2.2. Deney Hayvanlarının Temini, Bakımı ve Takibi

Çalışmada kullanılacak sıçanlar Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından tedarik edilmiştir. Yetiştirilen deney hayvanları rastgele seçilerek kontrol (Grup 1), MSG (Grup 2), *L. bulgaricus* (LB) (Grup 3) ve MSG + *L. bulgaricus* (MSG+LB) (Grup 4) olmak üzere dört gruba dağıtılmıştır. Kontrol ve deney gruplarında yer alan dişi ve erkek ratlar için ayrı kafesler hazırlanmış, her kafese aynı cinsiyetten sekizer sıçan yerleştirilmiştir. Sıçanlar yaklaşık %60 bağıl nem, 12 saat karanlık/aydınlık döngüsü ile $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de büyütülmüştür. Çalışma boyunca sıçanların takibi ve bakımında “DeneySEL ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik” uygulanmıştır (Resmi Gazete, 2011). Deneyin dördüncü haftasında sıçanların gelişimleri nedeniyle artan alan ihtiyaçları doğrultusunda her kafeste dört sıçan bulunacak şekilde kafesler ikiye ayrılmıştır.

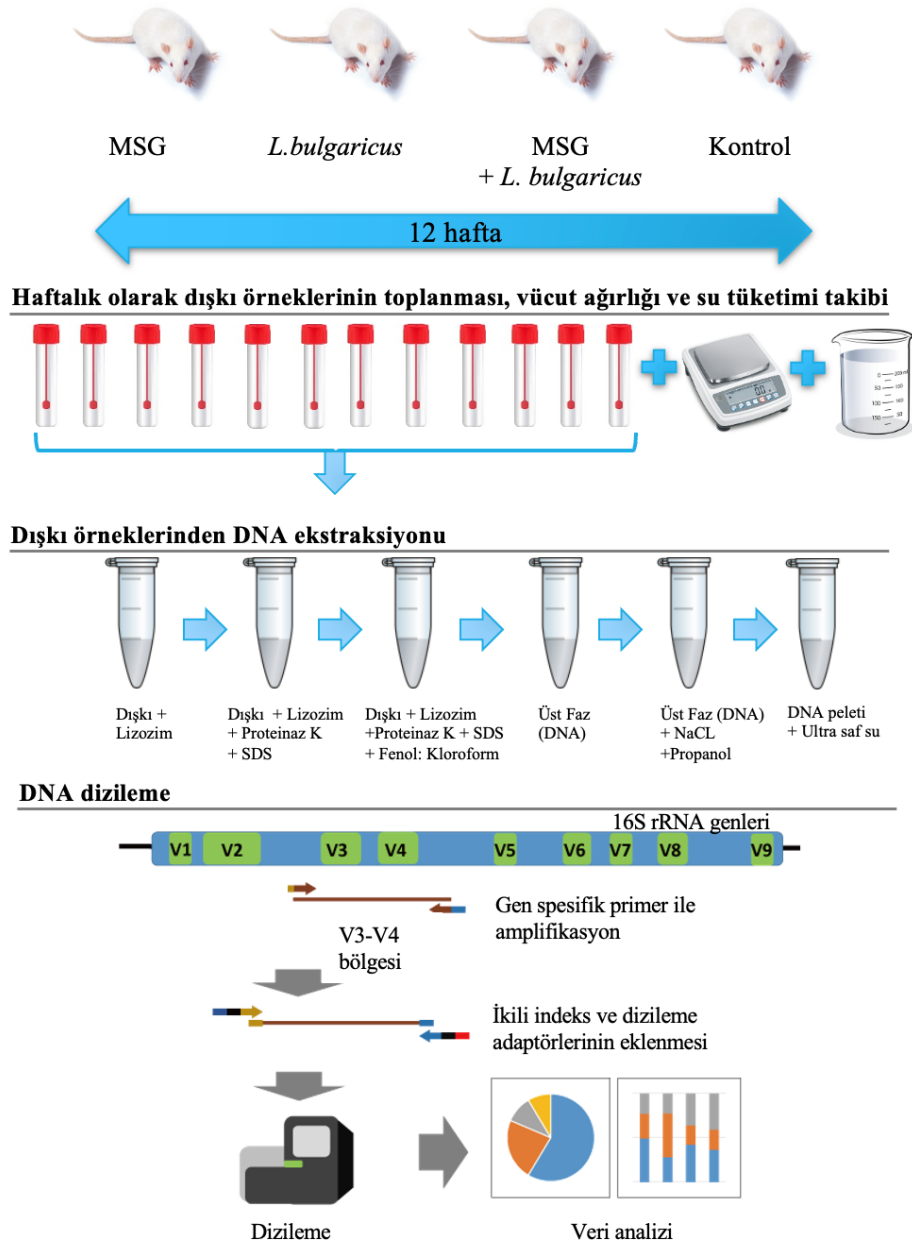
Müdahale gruplarında yer alan hayvanlarda fiziksel kısıtlamadan kaçınmak ve 3R (Reduce, Refine and Replace; Azalt, İyileştir, Değiştir) kuralına uymak üzere MSG ve *L. bulgaricus* içme suyuna ilave edilerek verilmiştir. Hayvanlarda intraperitoneal uygulama, subkutan enjeksiyon, gavaj uygulaması için fiziksel müdahale ve kısıtlama gerekmektedir. Bu uygulamaların hayvanların duygusal durumunu olumsuz etkilemekte, ek olarak kardiyovasküler ve hormonal değişikliklere sebep olmaktadır. Fiziksel kısıtlama uygulamaları sıçanlarda depresyon benzeri fenotipi indüklemek için kullanılmaktadır (Stuart & Robinson, 2015). Ek olarak, MSG'nin gavaj veya enjeksiyon gibi invaziv yöntemlerle verilmesi, insanların diyet ile alımını yansıtmamaktadır (Brosnan vd., 2014; Fernstrom, 2018; Husarova & Ostátníková, 2013; Tabbal, 2022). Gavaj uygulaması biyoyararlanım, absorpsiyon ve metabolizmayı etkileme ve stres tepkilerini tetikleme gibi birçok açıdan dezavantaja sahiptir.

Bu nedenlerle MSG'nin veriliş yolu muhtemel etki mekanizmalarının değerlendirilmesinde önem teşkil etmektedir.

Çalışma başlangıcından itibaren haftalık olarak sıçanlardan dışkı örnekleri toplanmış ve sonrasında hassas terazi ile vücut ağırlığı ölçümleri yapılmıştır. Sıçanların suları günlük olarak değiştirilmiş ve tüketilmeyen su miktarları kaydedilmiştir. Kaydedilen miktarlar üzerinden her grup için ortalama su tüketim miktarı hesaplanmıştır.

2.3. Araştırmanın Genel Tasarımı

Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında yetiştirilen hayvanlar altı haftalık olduklarında çalışma başlatılmıştır. Sıçanlar kontrol ve müdahale gruplarına rastgele olarak dağıtılmıştır. Çalışma on iki hafta boyunca devam etmiştir. Bu süreçte sıçanların haftalık olarak vücut ağırlığı ve su tüketim verileri ile dışkı numuneleri toplanmıştır. Alınan dışkı numunelerinden organik yöntem ile DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen örnekler metagenomik dizileme yöntemi ile dizilenmiş ve taksonomik sınıflar tespit edilmiştir. Araştırmanın akış şeması Şekil 2.2.'de sunulmuş olup çalışma detayları takip eden bölümlerde detaylandırılmıştır.



Şekil 2.2. Araştırmanın akış şeması

Araştırma için oluşturulan kontrol ve deney grupları aşağıdaki şekilde tasarlanmıştır:

Grup 1.1 - Dişi Kontrol (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve standart içme suyu

Grup 1.2 - Erkek Kontrol (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve standart içme suyu

Grup 2.1 - Dişi MSG (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 30 mg/kg MSG ilave edilmiş içme suyu

Grup 2.2 - Erkek MSG (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 30 mg/kg MSG ilave edilmiş içme suyu

Grup 3.1 - Dişi *L. bulgaricus* (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 10^7 kob/gün/sıçan *L. bulgaricus* içeren içme suyu

Grup 3.2 – Erkek *L. bulgaricus* (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 10^7 kob/gün/sıçan *L. bulgaricus* içeren içme suyu

Grup 4.1 – Dişi MSG + *L. bulgaricus* (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 30 mg/kg MSG + 10^7 kob/gün/sıçan *L. bulgaricus* içeren içme suyu

Grup 4.2 – Erkek MSG + *L. bulgaricus* (n=8): 12 hafta süresince standart pelet yem ve 30 mg/kg MSG + 10^7 kob/gün/sıçan *L. bulgaricus* içeren içme suyu

Tüm gruplar ad libitum olarak yem ve su tüketmiştir.

2.3.1. MSG Dozunun Hesaplanması

MSG tüketim miktarları kültürlerarası farklılıklar nedeniyle ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir ve bu alandaki veriler sınırlıdır. Dolayısıyla maruziyet dozu belirlenirken, gelecek sistematik derlemeler ve EFSA değerlendirmelerinde alandaki diğer çalışmalarla karşılaştırma yapılmasını da kolaylaştırmak amacıyla ADI dozu kullanılmıştır (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2017). Çalışma boyunca sıçanlara ADI dozu olan 30 mg/kg MSG (Sigma-Aldrich, G1626) içme suyuna eklenerek verilmiştir Her grubun içme suyuna eklenecek MSG miktarının tayini için haftalık vücut ağırlığı ölçümleri ve su tüketim miktarları kullanılmıştır. Her grup için değişen vücut ağırlıkları ve su tüketim değerleri ortalaması doğrultusunda haftalık olarak MSG dozları her grup için tekrar hesaplanmıştır. Deneyin son haftasında (T12) MSG grubunda yer alan bir erkek sıçan ölmüştür. Dolayısıyla vücut ağırlığı ölçümü ve dışkı örneği alınamamıştır. Su tüketimi miktar hesabı sıçan ölümü göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Sıçanların haftalık MSG alım dozları hafta başı ve sonu vücut ağırlıkları alınarak hesaplanmıştır (Çizelge 2.1.). Sıçanların deney boyunca MSG alım ortalaması 27,51 mg/kg olarak bulunmuştur.

Çizelge 2.1. MSG alan deney gruplarında yer alan sıçanların su tüketimi, vücut ağırlığı ve MSG dozu verileri

Müdahale Grubu	Hafta	Su Tüketimi (ml/sıçan/gün)	Ortalama Vücut Ağırlığı (g)	Su ile Alınan MSG Miktarı (mg/sıçan)	MSG Dozu (mg/kg)
MSG – Dişi	1	26,61	81,31	2,00	24,54
MSG – Erkek		14,29	71,38	1,07	15,01
MSG + LB – Dişi		32,95	106,25	2,47	23,26
MSG+LB – Erkek		28,93	73,63	2,17	29,47
MSG – Dişi	2	25,89	100,81	1,94	19,26
MSG – Erkek		26,07	94,38	1,96	20,72
MSG + LB – Dişi		36,25	129,06	2,72	21,07
MSG+LB – Erkek		30,54	96,00	2,29	23,86
MSG – Dişi	3	27,32	120,75	2,82	23,38
MSG – Erkek		35,71	119,06	6,03	50,63
MSG + LB – Dişi		35,54	150,44	3,85	25,62
MSG+LB – Erkek		33,21	121,75	2,90	23,84
MSG – Dişi	4	28,57	138,88	3,64	26,22
MSG – Erkek		38,75	144,88	4,83	33,36
MSG + LB – Dişi		40,18	170,75	4,62	27,07
MSG+LB – Erkek		39,73	147,00	4,21	28,61
MSG – Dişi	5	29,46	149,81	4,25	28,40
MSG – Erkek		35,71	171,25	3,89	22,73
MSG + LB – Dişi		41,96	184,69	5,73	31,05
MSG+LB – Erkek		43,75	166,00	5,36	32,32
MSG – Dişi	6	32,14	160,25	4,94	30,80
MSG – Erkek		38,21	195,13	4,73	24,26
MSG + LB – Dişi		40,18	196,00	5,39	27,49
MSG+LB – Erkek		38,39	182,19	4,59	25,18
MSG – Dişi	7	23,93	173,25	3,74	21,57
MSG – Erkek		40,18	211,06	6,16	29,18
MSG + LB – Dişi		35,89	207,06	4,87	23,51
MSG+LB – Erkek		37,50	199,00	4,47	22,45
MSG – Dişi	8	22,32	186,50	3,48	18,67
MSG – Erkek		42,86	227,63	6,99	30,71
MSG + LB – Dişi		37,50	215,56	5,66	26,27
MSG+LB – Erkek		44,64	216,56	6,65	30,71
MSG – Dişi	9	30,18	197,63	6,79	34,34
MSG – Erkek		38,93	243,13	6,23	25,63
MSG + LB – Dişi		40,18	221,94	7,12	32,06
MSG+LB – Erkek		45,71	230,75	7,58	32,87

Çizelge 2.1. Devam

Müdahale Grubu	Hafta	Su Tüketimi (ml/sıçan/gün)	Ortalama Vücut Ağırlığı (g)	Su ile Alınan MSG Miktarı (mg/sıçan)	MSG Dozu (mg/kg)
MSG – Dişi	10	33,75	205,25	8,78	42,79
MSG – Erkek		32,14	251,12	5,42	21,58
MSG + LB – Dişi		47,14	228,06	8,27	36,26
MSG+LB – Erkek		48,93	242,56	7,42	30,60
MSG – Dişi	11	32,50	211,25	6,51	30,84
MSG – Erkek		35,36	260,64	6,69	25,65
MSG + LB – Dişi		43,00	233,81	7,21	30,85
MSG+LB – Erkek		46,25	251,38	7,16	28,46
MSG – Dişi	12	37,95	216,00	7,05	32,62
MSG – Erkek		22,14	251,71	4,83	19,17
MSG + LB – Dişi		43,75	239,63	6,45	26,90
MSG+LB – Erkek		48,21	256,13	7,37	28,78

2.3.2. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Desteğinin Sağlanması

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) (CCM7190^T) liyofilize suşu rehidre edilerek kullanılmıştır. Steril Brain Heart Infusion (BHI) sıvı besiyerine bakteri aşılması yapılarak 37°C’de çalkalamalı olarak 24 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen bakteri kültürü için aşılama ve inkübasyon aşamaları tekrarlanmıştır.

İkinci inkübasyon sonucunda elde edilen bakteri kültürleri 4100 rpm’de 6 dakika santrifüj edilmiş ve sonrasında supernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen pelet bir kez %0,9 NaCl ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası elde edilen peletin üzerine %0,9 NaCl eklenmiştir. Elde edilen bakteri süspansiyonunun kob/ml konsantrasyonu UV spektrofotometre ile tespit edilmiştir (NanoDrop™ One/OneC Microvolume UV-Vis Spectrophotometer). Optik dansite ölçümü (OD₆₀₀) 600 nm’de yapılmıştır. Ölçümler doğrultusunda son konsantrasyon 3*10⁸ kob/ml olacak şekilde flasklara dağıtılmıştır.

L. bulgaricus kültürleri soğuk zincir korunarak hayvan laboratuvarına taşınmış ve +4°C’de muhafaza edilmiştir. Literatür doğrultusunda ratların içme sularına günlük olarak 1,0*10⁷ kob/sıçan olacak şekilde eklenmiştir (Ashraf & Shah, 2011; Jerez-Morales vd., 2021).

2.3.3. Dışkı Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Mikrobiyota analizlerinin yapılması için gerekli dışkı örnekleri çalışma başlangıcından itibaren haftalık olarak toplanmıştır. Çalışma başlangıç noktası dahil olmak

üzere toplam on üç kez örnek alınmıştır (T0-T12). Örnek toplanması için her hafta aynı gün ve saat seçilmiştir. Dışkı örneklerinin alınacağı eppendorf tüpler kafes ve hayvana göre kodlanarak hazırlanmıştır. Uygun tutuş pozisyonundayken direkt olarak rektumdan alınan dışkı örnekleri 2 ml'lik eppendorf tüplere konulmuştur. Haftalık olarak alınan örnekler soğuk zincir korunarak örneklerin analiz edileceği laboratuvara taşınmış ve -80°C'de muhafaza edilmiştir.

2.3.4. Sakrifikasyon Süreci ve Doku Örneklerinin Alınması

Çalışma sonunda T12 dışkı örneklerinin toplanması ile vücut ağırlığı ve su tüketim miktarı ölçümlerinin yapılmasını takiben sıçanlar intraperitoneal yol ile 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin verilerek anestezi altına alınmalarını takiben cerrahi sırasında eksanguinasyon yöntemi ile sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan doku örnekleri ileri çalışmalar için -80°C'de muhafaza edilmiştir.

2.4. Bağırsak Mikrobiyotası Analizleri

2.4.1. Dışkı Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu

Mikrobiyota analizine yönelik olarak sıçanlardan toplanan dışkı örneklerinden DNA ekstraksiyonu için organik yöntem (fenol:kloroform) uygulanmıştır (D. Liu vd., 2004). Her gruptan vücut ağırlığı değişimi bulunduğu grubu temsil edecek şekilde belirlenen bir erkek ve bir dişi sıçanın T0, T2, T4, T8 ve T12 dışkı örnekleri analize dahil edilmiştir.

Dışkı örneklerinden steril kürdan yardımı ile 4 mg alınarak eppendorf tüpe aktarılmıştır. Üzerine 500 µl lizozim (4 mg/ml) eklenerek, 37°C'de 69 rpm çalkalamalı su banyosunda gece boyunca karışması sağlanmıştır. Su banyosundan alınan örneklere ilk olarak pipetlenerek 10 µl proteinaz k, sonrasında 250 µl SDS eklenmiştir. Örnekler 2 saat boyunca 56°C'de 69 rpm çalkalamalı su banyosunda karıştırılmıştır. Sonrasında örneklere 750 µl fenol:kloroform (25:24) ilave edilmiş ve 14.000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen tüplerde üst fazdan 500 µl çekilerek yeni eppendorf tüplere aktarılmıştır. Üzerine ilk olarak 150 µl 5M NaCl pipetlenerek sonrasında 650 µl 2-propanol (1:1 hacim) eklenmiştir. Tüpler ters-düz edilerek karıştırılmış ve 14.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden alınan örneklerin supernatant kısmı dökülmüş ve pelet iki kez %70 soğuk etanol ile yıkanmıştır. Peletler 55°C etüvde 20 dk boyunca kurutulmuştur. Peletlerin üzerine 50 µl distile ultra saf su eklenmiş ve çözünmesi için 15 dk 55°C etüvde bekletilmiştir. Örneklerin DNA konsantrasyonu NanoDrop™ One (Thermo Fisher Scientific™, ABD) spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür.

Sonuçlar doğrultusunda iki aşamalı dilüsyon uygulanmış, ilk aşamada son konsantrasyon 10 µg/ml, ikinci aşamada ise 5 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu aşamadan elde edilen örnek tüpleri -20°C’de muhafaza edilmiştir.

2.4.2. 16S Metagenomik Dizileme

Son yıllarda DNA dizilemesinin azalan maliyeti ve artan hızı ile birlikte karmaşık veri setlerini analiz etmek için kullanılan hesaplama yaklaşımlarındaki ilerlemeler vücudundaki çeşitli bölgelerde küçük alt birim (16S) ribozomal RNA (16s rRNA) gen dizisine dayalı araştırmaları teşvik etmektedir. 16S rRNA geni tüm mikro organizmalarda bulunur ve doğru hizalama için yeterli dizi korunumuna ve filogenetik analizler için yeterli varyasyona sahiptir (Turnbaugh vd., 2007).

Yeni nesil dizilemeye yönelik olarak Illumina 16S metagenomik dizileme kitaplığı hazırlama kılavuzunda yer alan prosedür izlenmiştir (Illumina, Inc., San Diego, CA, ABD). Amplikon PCR aşamasında adaptör dizi primeri forward ve revers primer; sırasıyla, (5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3') (5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAA TCC-3') dizileri ile 16S rRNA bölgeleri KAPA HiFi Hot Start Ready Mix (2×) (Roche KK2602, Pleasanton, CA, ABD) kullanılarak amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon aşaması ilk olarak 3 dakika boyunca 95 C’de başlangıç denatürasyonu, sonrasında 25 döngü - 30 sn 95°C denatürasyon, 30 saniye 55°C bağlanma ve 30 saniye 72°C uzama; 5 dakika 72°C uzama ve 4°C’de bekleme şeklinde gerçekleştirilmiştir. Amplikon PCR ürünleri doğrulama için %1,5’lik agaroz jel içinde elektroforez ile ayrılmış ve referans DNA molekülü ile karşılaştırılmıştır. Sonrasında PCR Clean-Up aşamasında AMPure XP boncukları (Beckman Coulter, Indianapolis, ABD) kullanılarak 16S V3 ve V4 amplikonu serbest primerler ve primer dimer türlerinden arındırılmıştır. Index PCR aşamasında Nextera® XT Index kiti kullanılarak ikili indeksler ve Illumina sekanslama adaptörleri eklenmiştir. Index PCR ilk olarak 3 dakika boyunca 95 C’de başlangıç denatürasyonu, sonrasında 8 döngü: 30 sn 95°C denatürasyon, 30 saniye 55°C bağlanma ve 30 saniye 72°C uzama; 5 dakika 72°C uzama ve 4°C’de bekleme şeklinde gerçekleştirilmiştir. Index PCR sonrası tekrarlanan clean-up aşaması ile AMPure XP boncukları (Beckman Coulter, Indianapolis, ABD) kullanılarak kütüphane temizlenmiş ve PCR ürünleri doğrulama için %1,5’lik agaroz jel içinde elektroforez ile ayrılmış ve referans DNA molekülüyle karşılaştırılmıştır. Her kütüphaneden alınan 5 µl örnek birleştirilerek havuz oluşturulmuştur. Elde edilen havuzdan 50 µl çekilerek ultra saf su ile yapılan seri dilüsyon sonucunda 35 pm son konsantrasyona ulaşılmıştır. Dilüe edilen havuz örnek üzerine 35 pm

PhiX eklendikten sonra 20 µl çekilerek iSeq kartuşuna yüklenmiştir. Dizileme iSeq100 sisteminde (Illumina) yapılmıştır.

2.4.3. Dizileme Sonuçlarının Biyoinformatik Analizi

Yeni nesil dizilime sonucunda elde edilen ileri ve ters diziler, Greengenes2023 veritabanı kullanılarak Basespace (Illumina, Inc., San Diego, CA, ABD) yazılımı üzerinde operasyonel taksonomik birim yaklaşımıyla filum, sınıf, takım, familya, cins ve tür düzeyinde analiz edilmiştir. Mikrobiyal türler arasındaki çeşitliliğin belirlenmesi için Shannon çeşitlilik indeksi (H) ($H = -\sum p_i * \ln(p_i)$)¹ kullanılmış, değerler arasındaki istatistiksel fark Hutcheson t-testi ile belirlenmiştir (Hutcheson, 1970; Ortiz-Burgos, 2015). Shannon çeşitlilik indeksi, farklı habitatlar arasındaki çeşitliliği karşılaştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. İndeks temel olarak biyolojik değişkenliğin nicel bir tahminini elde etmeyi amaçlar (Ortiz-Burgos, 2015). Örnekler arasındaki mikrobiyotanın yapısının benzerlik ve farklılıkları, temel bileşen ordinat analizi (PCoA) yöntemiyle, Bray-Curtis benzerlik indeksi kullanılarak PAleontological STatistics (PAST) yazılımı 4.06b paketi (2021) ile saptanmıştır. Mikrobiyal toplulukların benzerliğini karşılaştırmaya yönelik bir yöntem olan PCoA grafiklerinde, yakın noktalar benzer örnekleri, uzak noktalar ise benzer olmayan örnekleri temsil etmektedir (Martino vd., 2022).

2.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel analizi için IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 22.0 kullanılmıştır. Verilerin dağılımı Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Farklı zaman noktalarında gruplar arası farklılık normal dağılım görülmesi durumunda Tek Yönlü ANOVA, normal dağılım görülmemesi durumunda Kruskal-Wallis ile test edilmiştir. Tek Yönlü ANOVA testinde dağılımın homojen olması durumunda Tukey, homojen olmadığı durumda Tamhane's T2 post-hoc testleri kullanılmıştır. Kruskal Wallis analizinde ikili gruplar arasında karşılaştırmalar için Pairwise Comparison değerleri dikkate alınmıştır. İstatistiksel testlerin tamamında %95,0 güven aralığı kabul edilmiştir. Analizler için anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

¹ Σ : toplam, $\ln$: doğal logaritma, p_i : i türünden oluşan tüm taxonun oranı

3. BULGULAR

3.1. Sıçanlarda Vücut Ağırlığı Değişiminin Değerlendirilmesi

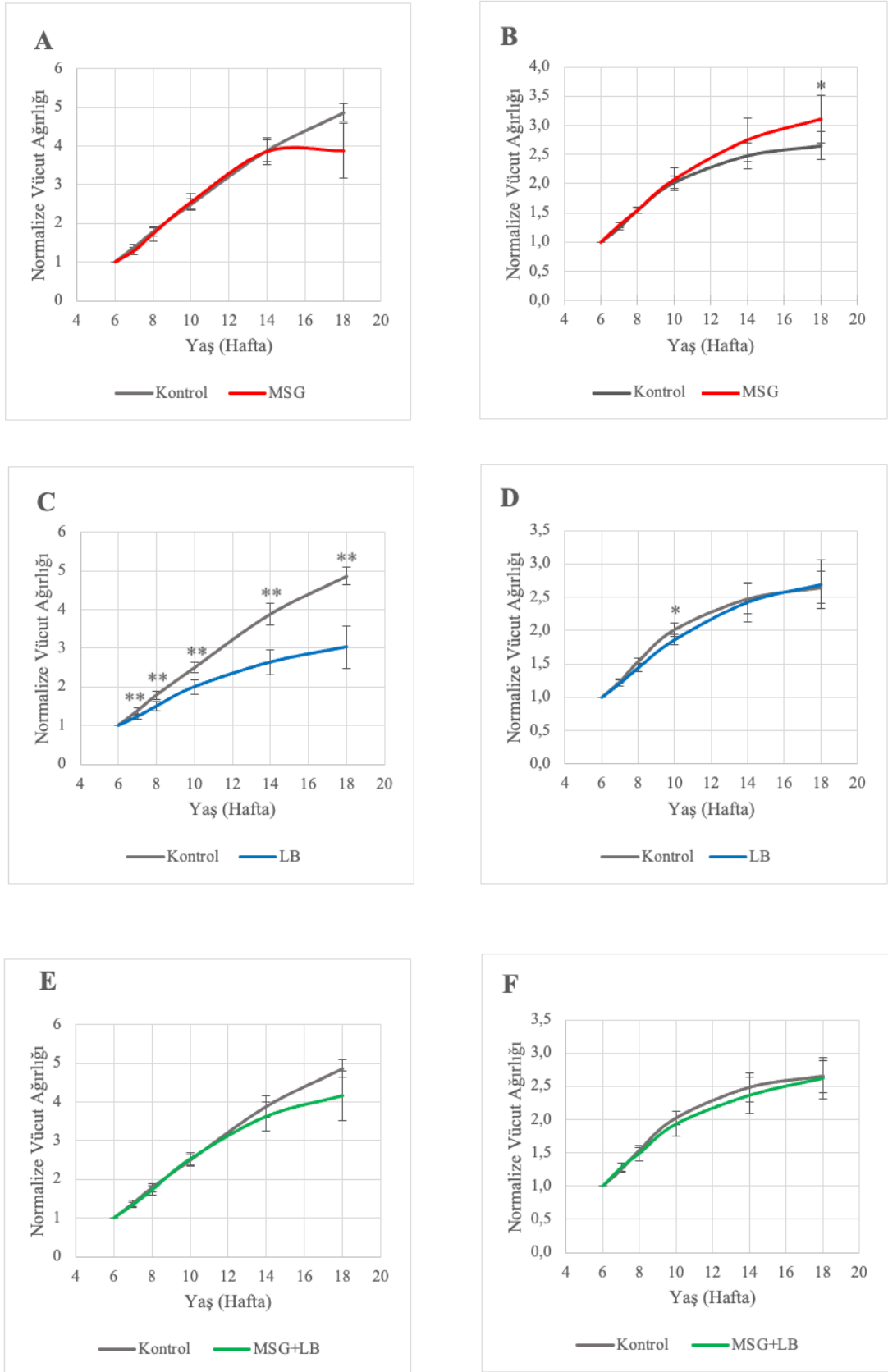
Kontrol, MSG, LB ve MSG+LB gruplarındaki sıçanların farklı zaman dilimlerinde kaydedilen vücut ağırlıkları ortalama değerleri, grupların başlangıç zamanı vücut ağırlığı ortalama değerlerine bölünerek başlangıç zamanına göre oransal vücut ağırlığı değişimleri hesaplanmıştır. Müdahale gruplarındaki dişi ve erkek sıçanların normalleştirilmiş vücut ağırlığı değişimi verileri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (Şekil 3.1).

MSG grubu erkek sıçanlarda onuncu haftaya kadar kontrol grubuna paralel bir artış görülmekle birlikte deney sonunda başlangıç değerinin 3,89 katına ulaşmıştır. Kontrol grubu erkek sıçanlarda ise bu değer 4,87 olarak daha yüksek olarak tespit edilmiştir. MSG grubunda yer alanda dişi sıçanların ise vücut ağırlığı ortalaması başlangıç değerinin 3,11 katına ulaşırken, kontrol grubu dişi sıçanlarda bu oran 2,63 olarak izlenmiştir. Bu doğrultuda dişi sıçanlarda MSG'nin vücut ağırlığı kazanımını artırma üzerinde potansiyel bir etkisi olduğu anlaşılmaktadır.

LB grubu erkek sıçanlarda deney sonundaki vücut ağırlığı ortalaması başlangıç değerinin 3,03 katına ulaşmıştır. LB grubunda yer alan dişi sıçanların oransal vücut ağırlığı değişimi kontrol grubuna paralel olarak izlenmiştir. LB grubunda deney sonu vücut ağırlığı ortalaması başlangıç değerinin 2,69 katına ulaşmıştır. Oral *L. bulgaricus* alımının dişi sıçanların vücut ağırlığı üzerinde potansiyel bir etkisi gözlemlenmezken, erkek sıçanlarda vücut ağırlığı kazanımını azaltma üzerinde potansiyel ve anlamlı bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

MSG+LB grubu erkek sıçanlarda vücut ağırlığının başlangıç değerinin 4,17 katına ulaştığı ve kontrol grubunun altında bir değerde kaldığı görülmüştür. Dişi sıçanlarda ise kontrol grubuna benzer bir artış belirlenmiş, deney sonundaki vücut ağırlığı ortalamasının başlangıç değerinin 2,63 katına ulaştığı tespit edilmiştir. Bu doğrultuda MSG ile kombine *L. bulgaricus* alımının dişi sıçanlarda vücut ağırlığı üzerinde bir etkisi görülmezken, erkek sıçanlarda vücut ağırlığı kazanımını azaltmaya yönelik potansiyel etkisi gözlenmiştir.

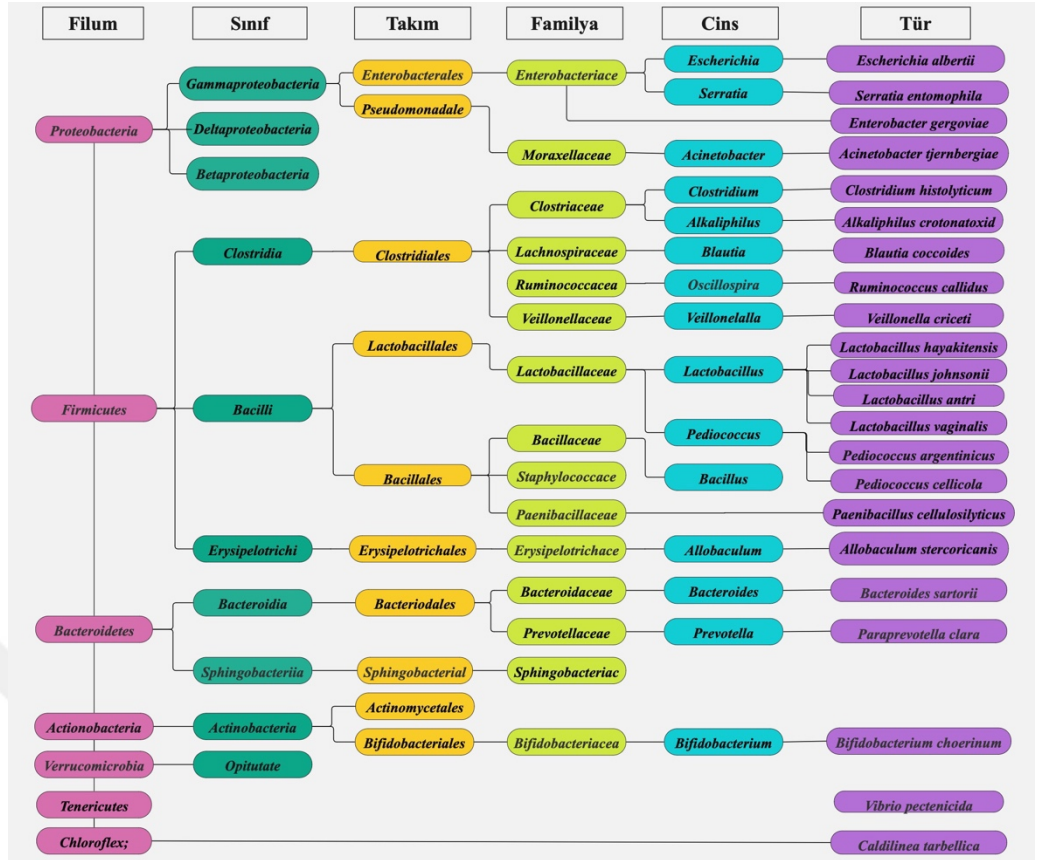
Tüm gruplar için bakıldığında erkeklerde en yüksek artış oranının kontrol grubunda (4,87), dişilerde ise MSG grubunda (3,11) olduğu görülmektedir.



Şekil 3.1. A-B) MSG, C-D) LB ve E-F) MSG+LB grubu, sırasıyla erkek ve dişi sıçanlarda başlangıç zamanına göre normalize vücut ağırlığının kontrol grubuna göre değişimi, p değerleri: * <0,05, ** <0,001

3.2. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotası Profili

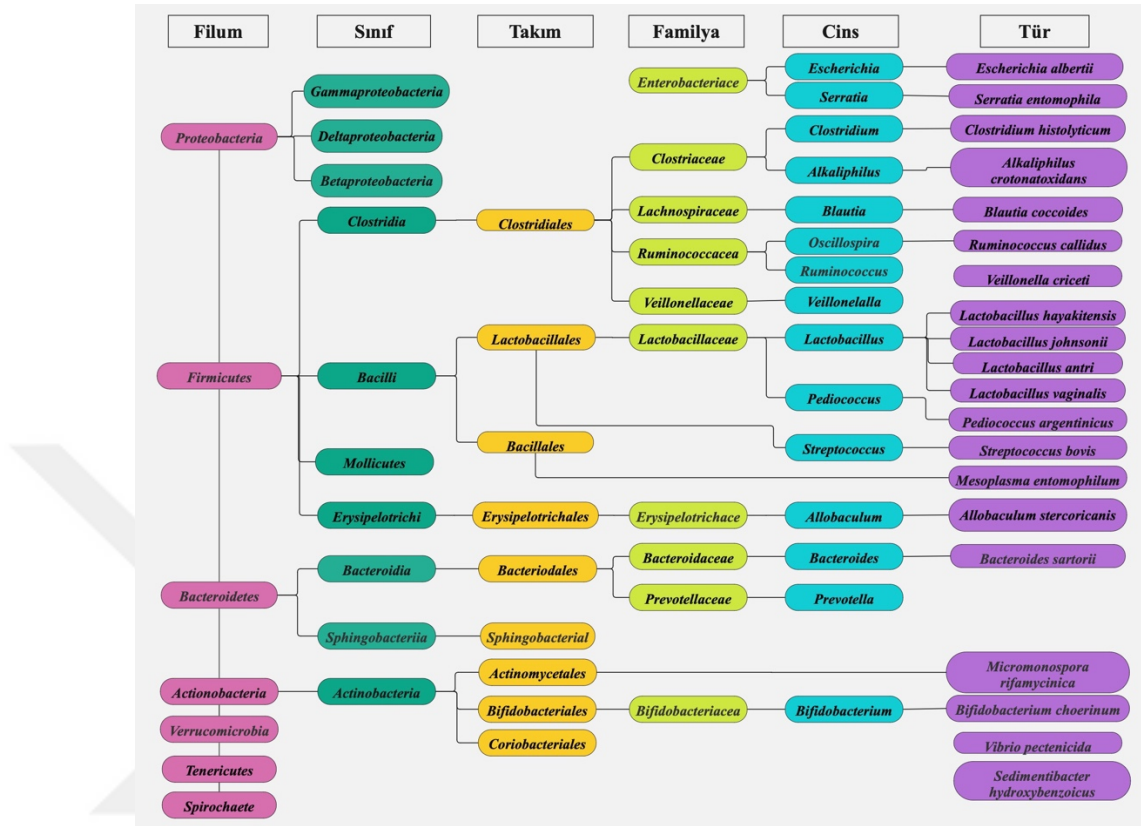
Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında yaygın olarak görülen filumlar *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Tenericutes* ve *Chloroflex*; en yaygın sınıflar *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Actinobacteria*, *Erysipelotrichi*, *Sphingobacteriia*, *Deltaproteobacteria*, *Opitutae* ve *Betaproteobacteria*; en yaygın takımlar *Enterobacteriales*, *Clostridiales*, *Bacteriodales*, *Lactobacillales*, *Bacillales*, *Pseudomonadales*, *Erysipelotrichales*, *Sphingobacteriales*, *Actinomycetales*, ve *Bifidobacteriales*; en yaygın familyalar *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Lactobacillaceae*, ve *Bacteroidaceae*, *Veillonellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Moraxellaceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Prevotellaceae*, *Paenibacillaceae*, *Bifidobacteriaceae* ve *Staphylococcaceae*; en yaygın cinsler *Escherichia*, *Bacteroides*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Serratia*, *Veillonella*, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Allobaculum*, *Alkaliphilus*, *Oscillospira*, *Prevotella*, *Pediococcus*, *Bacillus* ve *Bifidobacterium*; en yaygın türler *Escherichia albertii*, *Serratia entomophila*, *Allobaculum stercoricanis*, *Veillonella criceti*, *Alkaliphilus crotonatoxidans*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Paenibacillus cellulosilyticus*, *Blautia coccoides* ve *Bacteroides sartorii*, *Bifidobacterium choerinum*, *Pediococcus argentinus*, *Ruminococcus callidus*, *Pediococcus cellicola*, *Clostridium histolyticum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Caldilinea tarbellica*, *Vibrio pectenica*, *Lactobacillus hayakitensis*, *Enterobacter gergoviae* ve *Paraprevotella clara* olarak tespit edilmiştir. En sık görülen taksonomik sınıfların dağılımı Şekil 3.2.'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Erkek sıçan dışkı mikrobiyotasında en sık görülen taksonomik sınıflar

Dişi sıçanların mikrobiyotasından en yaygın görülen filumlar *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia* ve *Spirochaetes*; en yaygın sınıflar *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Actinobacteria*, *Erysipelotrichi*, *Sphingobacteriia*, *Deltaproteobacteria*, *Mollicutes* ve *Betaproteobacteria*; en yaygın takımlar *Clostridiales*, *Lactobacillales*, *Bacteroidales*, *Erysipelotrichales*, *Bacillales*, *Bifidobacteriales*, *Sphingobacteriales*, *Actinomycetales* ve *Coriobacteriales*; en yaygın familyalar *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillaceae*, *Clostridiaceae*, *Veillonellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Ruminococcaceae* ve *Prevotellaceae*; en yaygın cinsler *Escherichia*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Allobaculum*, *Bifidobacterium*, *Serratia*, *Clostridium*, *Prevotella*, *Alkaliphilus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Ruminococcus* ve *Oscillospira*; en yaygın türler *Escherichia albertii*, *Allobaculum stercoricanis*, *Veillonella criceti*, *Serratia entomophila*, *Blautia coccoides*, *Bifidobacterium choerinum*, *Pediococcus argentinicus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Alkaliphilus crotonatoxidans*, *Bacteroides sartorii*, *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus callidus*, *Lactobacillus hayakitensis*, *Sedimentibacter hydroxybenzoicus*, *Vibrio pectenicida*, *Lactobacillus antri*, *Mesoplasma entomophilum*, *Clostridium histolyticum*, *Lactobacillus*

vaginalis ve *Micromonospora rifamycinica* olarak tespit edilmiştir. En sık görülen taksonomik sınıfların dağılımı Şekil 3.3.'de sunulmuştur.



Şekil 3.3. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en sık görülen taksonomik sınıflar

3.3. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler

3.3.1. Erkek Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan erkek sıçanların dışkılarındaki baskın filumların sırasıyla *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* olduğu ve bunları *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Tenericutes* ve *Chloroflex* filumlarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.4). Kontrol grubu erkek sıçanların başlangıç zamanı (T0) dışkı örneklerinde filum dağılımının %65,7 *Proteobacteria*, %18,3 *Firmicutes*, %10,2 *Bacteroidetes*, %4,2 *Actinobacteria*, %1,6 diğer filumlar şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Baskın olan gruplar aynı kalmakla birlikte deney süresince filumların oranı değişiklik göstermiştir. Müdahale gruplarında başlangıç zamanı dağılımları MSG grubu için %42,5 *Firmicutes*, %27,5 *Proteobacteria*, %18,4 *Bacteroidetes*, %7,1 *Actinobacteria*, %4,4 diğer filumlar; LB grubu için %55,4 *Firmicutes*, %39,2 *Proteobacteria*, %2,6 *Bacteroidetes*, %1,2 *Actinobacteria*,

%1,6 diğer filumlar; MSG+LB grubunda %53,8 *Firmicutes*, %31,6 *Proteobacteria*, %8,1 *Bacteroidetes*, %3,7 *Actinobacteria*, %2,8 diğer filumlar şeklinde tespit edilmiştir.

Kontrol grubunda başlangıçta %65,7 olan *Proteobacteria* oranı deney boyunca dalgalı bir seyir takip etmiş, T2’de azalarak %60,7 olmuş, T2’de tekrar yükselerek başlangıç seviyesinin üstüne çıkmış ve %66,2 seviyesine ulaşmış, T4’te tekrar düşerek %57,1 olmuş, T8’de yükselerek en yüksek seviyeye gelerek %72,3 olmuş, T12’de ise tekrar düşerek %68,1 seviyesine inmiştir. Müdahale gruplarındaki değişim incelendiğinde ise farklı değişim eğilimleri görülmektedir. MSG grubunda başlangıç zamanına (%27,5) kıyasla ilk haftada (%28,4) belirgin bir değişim olmaz iken, sonrasında ikinci haftadan sekizinci haftaya kadar bir artış trendi görülmüş (T2: %40,4; T4: %51,8; T8: %71,7), on ikinci haftada ise sekizinci haftadaki oranın yarısının altına düşmüştür (%31,8). LB grubu incelendiğinde, başlangıç zamanından başlayarak sekizinci haftaya kadar yükselme eğilimde olduğu (T0: %39,2; T2:%68,3; T4:%70,7; T8:%90,5) on ikinci haftada ise azalarak %58,6 oranına indiği görülmektedir. MSG+LB grubunda başlangıçtan ikinci haftaya kadar bir artış trendi görülmüş (T0: %31,6; T1: %40,6; T2: %68,1), dördüncü haftada azalan oran (%52,9) sekinci haftada tekrar yükselmiş (%77,6) ve sonrasında on ikinci haftada tekrar düşmüştür (%50,1) (Şekil 3.4).

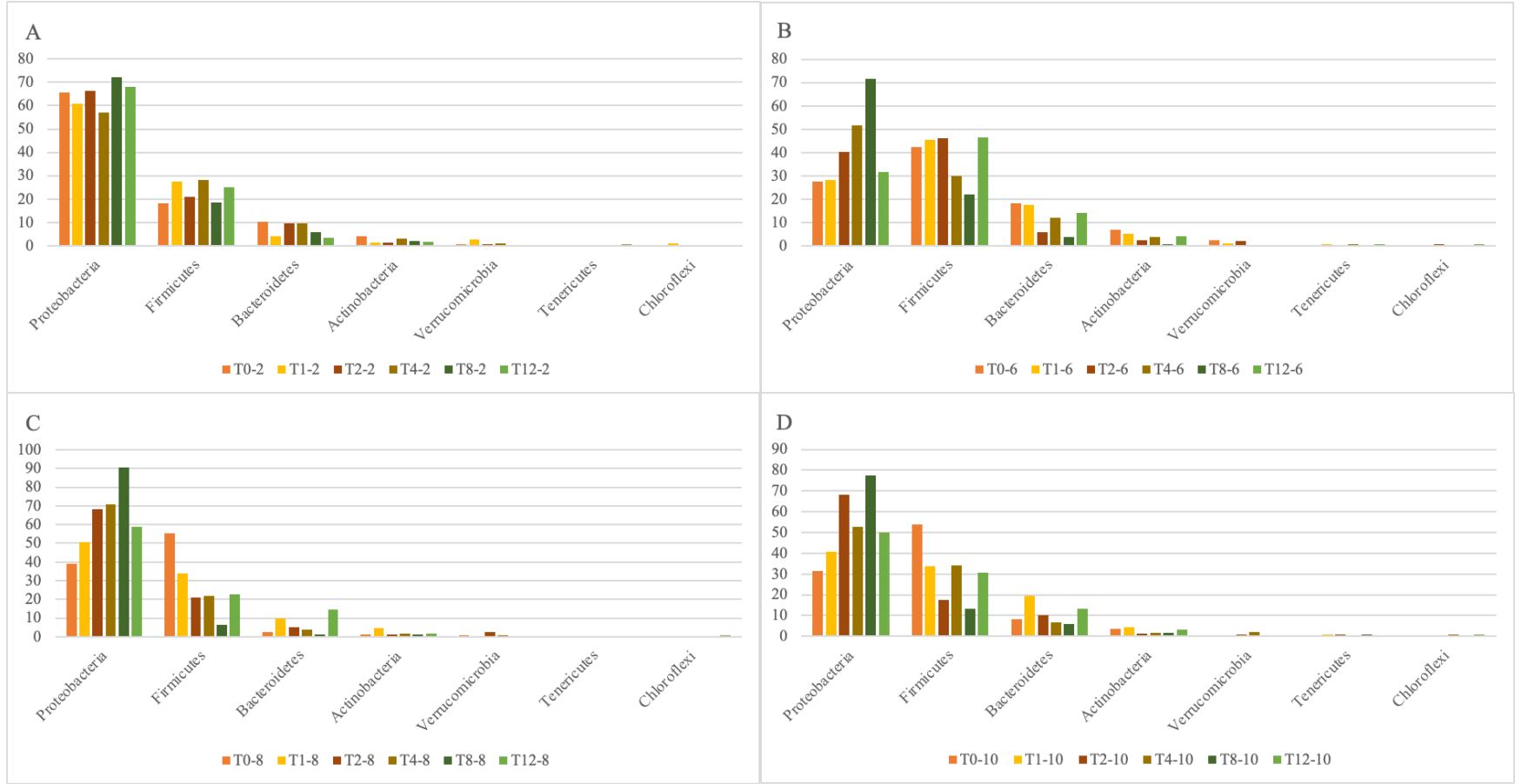
Firmicutes oranı deney süresince kontrol grubunda dalgalı bir seyir göstermiştir. İlk haftada (%27,6) başlangıç zamanına (%18,3) kıyasla artış görülürken, ikinci haftada (%20,9) oran azalarak başlangıç zamanındaki orana yaklaşmıştır. Dördüncü haftadaki artışı (%28,1), sekizinci haftada yaklaşık %10 oranında bir düşüş (%18,6) takip etmiştir. Deney sonunda ise *Firmicutes* oranı tekrar yükselerek %25,1’e ulaşmıştır. MSG grubu *Firmicutes* oranında ikinci haftaya kadar kısmi bir artış eğilimi görülmüş (T0: %42,5; T1: %45,4; T2: %46,3), dört ve sekizinci haftalarda ise belirgin düzeyde bir azalma gözlenmiştir (T4: %29,9; T8: %22,3). Deney sonunda ise sekizinci haftaya kıyasla belirgin bir artış ile %46,4 oranına ulaşmıştır. LB grubunda sekizinci haftaya kadar bir azalma trendi görülmüştür (T0:%55,4; T1:%33,7; T2:%21,0; T4:%21,8; T8:%6,2). On ikinci haftada ise tekrar artmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yarısının altında kalmıştır (%22,5). MSG+LB grubunda ise ikinci haftaya kadar süren azalma eğilimi (T0: %53,8; T1:%33,7; T2:%17,5) sonrasında dördüncü haftada ikinci haftanın iki katı bir orana ulaşmıştır (%34,0). Sekizinci haftada tekrar düşen *Firmicutes* oranı deney sonunda tekrar yükselerek %30,6 seviyesine gelmiştir (Şekil 3.4).

Bacteroidetes oranının kontrol grubundaki değişimi dalgalı bir seyir göstermiştir. Başlangıçta %10,2 olan oran ikinci haftada azalırken (%4,2) ikinci haftada tekrar artış

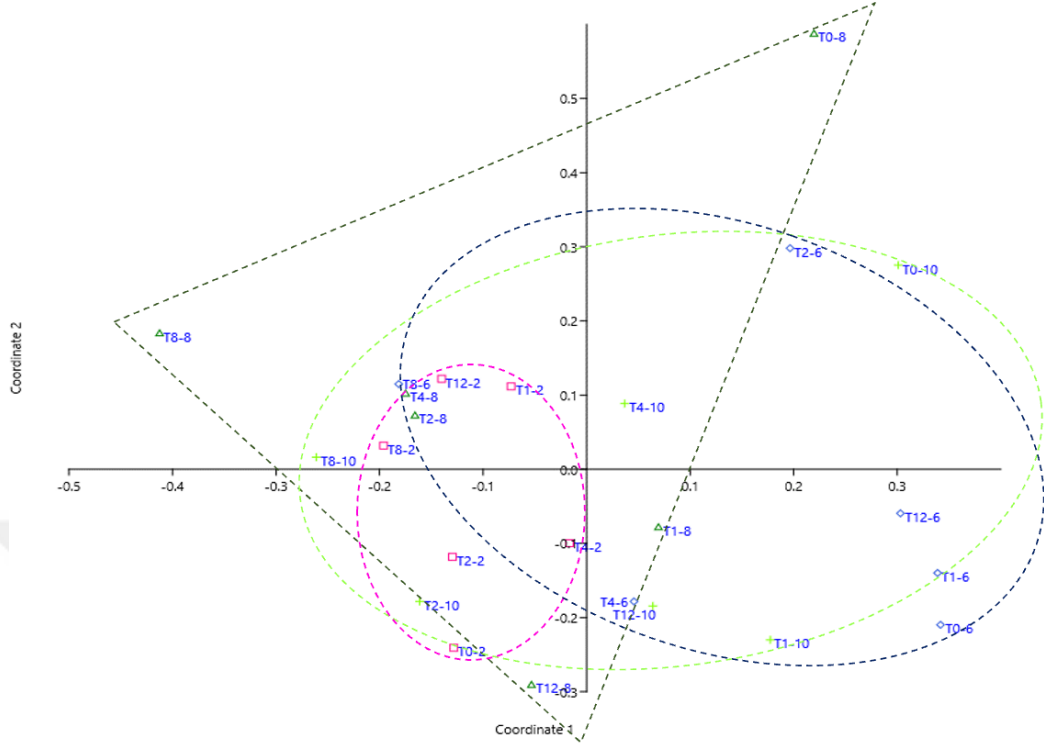
göstererek başlangıç değerine yaklaşmıştır (%9,7). Dördüncü haftada belirgin bir değişim görülmezken sekiz (%5,8) ve on ikinci haftalarda (%3,3) tekrar düşme eğilimi göstermiştir. MSG grubunda ikinci haftaya kadar devam eden azalma trendi (T0:%18,4; T1:%17,5; T2:%5,9) sonrasında yerini dalgalı bir seyire bırakmıştır (T4:%12,1; T8:%3,9; T12:%14,1). LB grubunda ilk haftada (%9,8) başlangıca (%2,6) kıyasla bir artış gözlemlenirken sonrasında sekizinci haftaya kadar devam eden bir azalma trendi ortaya çıkmıştır (T2:%4,9; T4:%3,9; T8:1,1). Deney sonunda ise artarak %14,6 oranına ulaşmıştır. MSG+LB grubunda da değişim dalgalı bir seyir göstermiştir. İlk haftada (%19,3) artış göstererek başlangıç değerinin (%8,1) iki katını aşan *Bacteroidetes* oranı ikinci haftada (%10,1) tekrar düşüş göstermiştir. Bu azalma trendi dört ve sekizinci haftalarda da devam etmiştir (sırasıyla %6,6 ve %5,9) . Deney sonunda ise tekrar artış göstererek %13,4 oranına ulaşmıştır (Şekil 3.4).

Kontrol grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Actinobacteria* oranı (T0: %4,2; T1: %1,3; T2: %1,8; T4: %1,4; T8: %1,9) deney sonunda azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun yarısının altında kalmıştır (%1,8). MSG grubunda diğer gruplara kıyasla bir miktar daha yüksek bir değere sahip olan *Actinobacteria* oranı (%7,1); deney süresince dalgalı bir seyir izlemiş (T1: %5,2; T2: %2,6; T4: %4,0; T8: %0,9) deney sonunda miktar artmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%4,0). LB grubunda *Actinobacteria* oranı ilk hafta bir miktar yükseldikten (T0: %1,2; T1: %4,6) sonra tekrar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğa yakın değerleri korumuştur (T2: %1,1; T4: %1,6; T8: %1,4; T12: %1,7). MSG+LB grubunda ilk hafta bir miktar artış gösteren (T0: %3,7; T1: %4,3) *Actinobacteria* oranı ikinci hafta azalmıştır (%1,2). Dört ve sekizinci haftalarda çok belirgin değişim göstermezken (T4: %1,5; T8: %1,6) deney sonunda bir miktar artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değere ulaşmıştır (%3,4) (Şekil 3.4).

PCoA grafiğine göre kontrol grubunun müdahale gruplarına kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.5). Bu doğrultuda, müdahale grupları mikrobiyal kompozisyonunda kontrol grubuna göre belirgin değişimlerin olduğu anlaşılmaktadır. LB grubunda T0 ve T12 örnekleri arasındaki uzaklığın diğer gruplardan fazla olduğu, dolayısıyla deney sonunda gruplar arasında en büyük değişimin bu grupta olduğu görülmektedir. MSG+LB grubu için bu uzaklık LB grubu ile benzerdir. Kontrol ve MSG gruplarında ise T0 ve T12 örneklerinin birbirine daha yakın olduğu görülmektedir.



Şekil 3.4. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 7 filum. A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.5. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların filum Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan erkek sıçanların dışkılarındaki baskın sınıfların *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacili*, *Bacteroidia*, *Actinobacteria*, *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* olduğu ve bunları *Deltaproteobacteria*, *Opitutae*, *Betaproteobacteria* sınıflarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.6). Kontrol grubu için başlangıç noktası filum dağılımı %48,8 *Gammaproteobacteria*, %16,3 *Bacili*, %10,5 *Bacteroidia*, %8,5 *Clostridia*, %6,0 *Actinobacteria*, %3,8 *Sphingobacteriia*, %1,7 *Erysipelotrichi* ve %4,5 diğer sınıflar olarak tespit edilmiştir. MSG grubunda bu dağılım %29,5 *Clostridia*, %22,0 *Bacili*, %15,6 *Bacteroidia*, %9,1 *Actinobacteria* ve %6,6 *Sphingobacteriia*, %3,2 *Erysipelotrichi*, %3,1 *Opitutae*, %2,9 *Gammaproteobacteria*, %2,4 *Betaproteobacteria* ve %5,5 diğer sınıflar; LB grubunda %68,3 *Bacili*, %15,5 *Clostridia*, %4,2 *Gammaproteobacteria*, %2,7 *Bacteroidia*, %1,7 *Actinobacteria*, %1,7 *Erysipelotrichi*, %1,2 *Sphingobacteriia* ve %4,7 diğer sınıflar; MSG+LB grubunda ise %40,6 *Clostridia*, %22,3 *Bacili*, %9,4 *Bacteroidia*, %6,8 *Erysipelotrichi*, %5,8 *Epsilonproteobacteria*, %4,4 *Actinobacteria*, %3,2 *Gammaproteobacteria* ve %7,5 diğer sınıflar olarak tespit edilmiştir.

Gammeproteobacteria oranı kontrol grubunda hafif seyirde dalgalanma göstermekle birlikte deney sonunda çok büyük oranda bir değişim gözlemlenmemiştir (T0: %48,8; T12: %45,5). Pik noktasına ise sekizinci haftada ulaşmıştır (%52,1). MSG grubunda ise sekizinci haftaya kadar artış trendinde iken (T0: %2,9; T8: %51,8) deney sonunda azalarak başlangıç değerine yaklaşmıştır (%3,9). LB grubunda da benzer şekilde sekizinci haftaya kadar görülen artış (T0: %4,2; T8: %81,8) sonrasında deney sonunda azalarak %33,6'ya düşmüştür. MSG+LB grubunda ikinci haftaya kadar artan *Gammeproteobacteria* oranı dördünü haftada azalarak %34,8 olmuş, sekizinci haftada artış göstererek pik noktasına ulaşmış (%59,8), deney sonunda tekrar azalarak %21,0 tespit edilmiştir (Şekil 3.6).

Clostridia oranı kontrol grubunda başlangıçta %8,5 iken ilk hafta artış göstererek %30,4 oranına ulaşmış, ikinci haftada ise azalarak yaklaşık yarı oranına düşmüştür (%16,5). Dördüncü hafta tekrar artışı sekizinci haftada bir azalma izlemiştir (sırasıyla, %24,9; %17,9). Deney sonunda ise bir miktar daha azalma göstererek %15,9 seviyesine düşmüştür. MSG grubunda ilk hafta belirgin bir değişim olmazken (T0: %29,5; T1: %30,8), sonrasında sekizinci haftaya kadar bir azalma trendi gözlemlenmiş (T2:%26,1; T4:%24,3; T8:%20,5), deney sonunda ise artarak başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık 1,5 katına ulaşmıştır (%44,4). LB grubunda ilk hafta artış gösteren (T0: %15,5; T1:%22,2) *Clostridia* oranı ikinci haftada ise azalmıştır (%18,2). Dört ve sekizinci haftalarda da azalmaya devam ederken (sırasıyla %16,5; %7,0) deney sonunda artış göstererek %21,8 oranına ulaşmıştır. MSG+LB grubunda başlangıçta %40,6 olan *Clostridia* oranı ilk haftada %17,1 seviyesine düşmüş, ikinci haftada

da azalma devam etmiş ve oran %10,3 olmuştur. Dördüncü haftada tekrar artış göstererek %37,5 değerine ulaşırken, sekizinci haftada belirgin bir şekilde azalarak %12,7 olmuştur. Deney sonunda ise tekrar artarak başlangıçtaki nispi çokluğa yaklaşmıştır (%35,1) (Şekil 3.6).

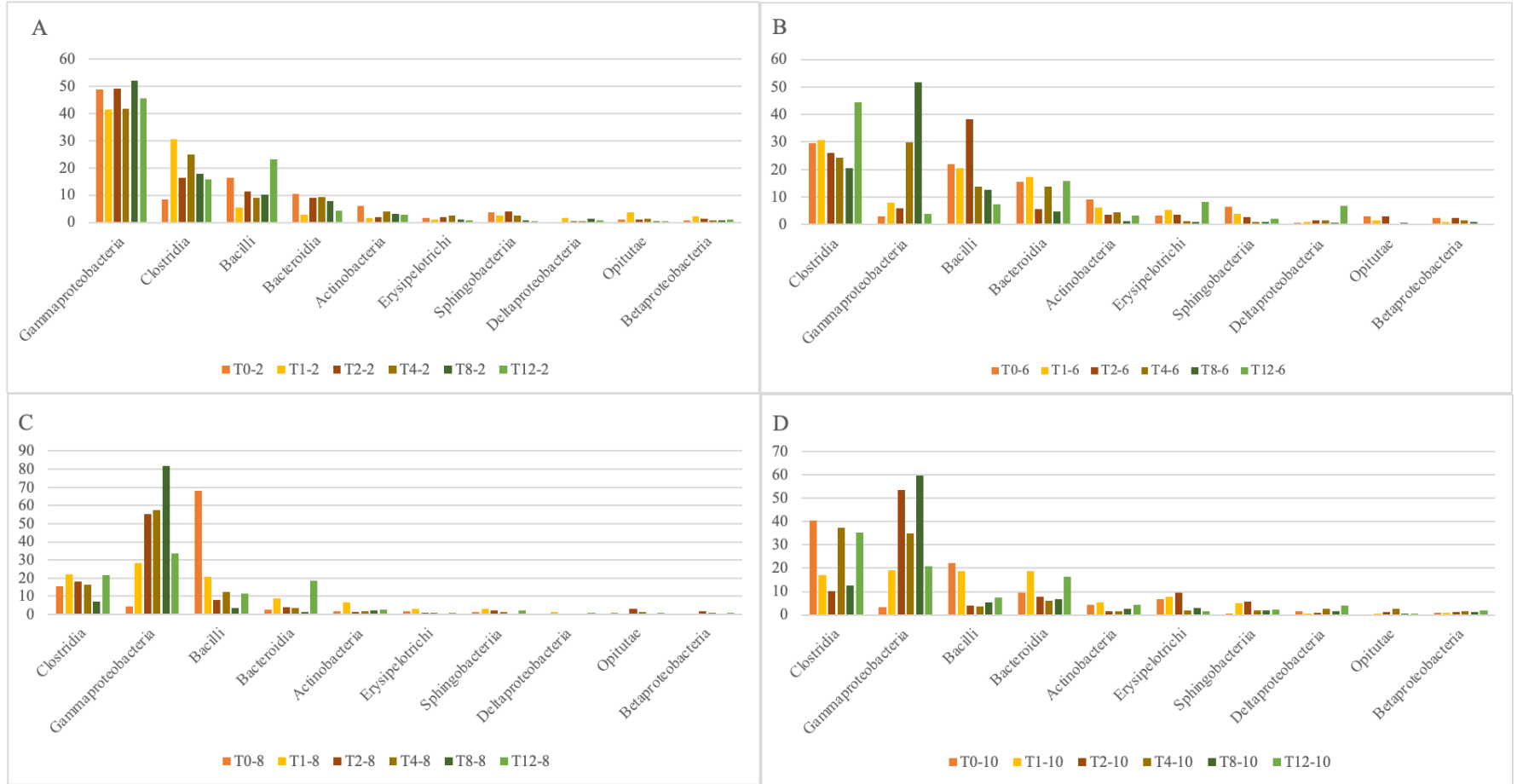
Bacilli oranı kontrol grubunda ilk haftadan başlayarak deney sonuna kadar dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta yaklaşık üçte biri oranına düşerken (T0: %15,3; T1: %5,4), ikinci haftada tekrar artarak %11,3 seviyesine çıkmıştır. Dördüncü haftada *Bacilli* oranı bir miktar azalırken (%9,0), sekiz ve on ikinci haftalarda artış göstererek deney sonunda %23,1 değerine ulaşmıştır. MSG grubunda ilk hafta belirgin bir değişim olmazken (T0: %22,0; T1: %20,5), ikinci haftada artış göstermiştir (%38,3). Dördüncü hafta itibarıyla *Bacilli* oranı azalma trendi göstermiş (T4: %13,7; T8: %12,6) ve deney sonunda %7,4 olmuştur. LB grubunda başlangıçta %68,3 olan *Bacilli* oranı belirgin biçimde azalarak ikinci haftada %8,1 seviyesine inmiştir. Dördüncü hafta bir miktar artış gösterirken (%12,2) sekizinci haftada tekrar azalmıştır (%3,4). Deney sonunda tekrar artış göstermekle birlikte başlangıç nispi çokluğun oldukça altında kalmıştır (%20,8). MSG+LB grubunda dördüncü haftaya kadar bir azalma trendi görülmüştür (T0: %22,3; T1: %18,7; T2: %4,0; T4: %3,6). Sekiz ve on ikinci haftalarda ise bir miktar artış tespit edilmiştir (T8: %5,5; T12: %7,3) (Şekil 3.6).

Bacteroidia oranı kontrol grubunda ilk haftada azalma gösterirken (T0: %10,5; T1: %2,7), ikinci hafta artış göstermiş, dördüncü haftada ise belirgin bir değişiklik olmamıştır (T2: %9,1; T4: %9,2). Sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar bir miktar azalma göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun yarı değerinin altına düşmüştür (T8: %7,7; T12: %4,4). MSG grubunda *Bacteroidia* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar artış gösterirken (T0: %15,6; T1: %17,3), ikinci hafta daha belirgin bir şekilde azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun üçte bir oranına düşmüştür (%5,6). Dördüncü haftada iki katını aşacak şekilde gözlemlenen artışı (%13,7), sekizinci haftada tekrar bir azalma takip etmiştir (%4,7). Son haftada ise tekrar artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluk seviyesine geri ulaşmıştır (%15,8). LB grubunda da dalgalı bir değişim seyri izlenmiştir. İlk hafta üç katını aşacak şekilde artarken ikinci haftada tekrar başlangıç değerine yakın bir seviyeye düşmüştür (T0: %2,7; T1: %8,8; T2: %3,9). Dördüncü haftada belirgin bir değişim gözlemlenmezken (%3,7), sekizinci haftada %1,4 oranına düşmüştür. Deney sonunda ise belirgin bir artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yedi katına ulaşmıştır (%18,7). MSG+LB grubunda ilk haftada artış göstererek iki katına ulaştıktan sonra (T0: %9,4; T1: %18,7), ikinci hafta yarı değerinin altına inmiştir (T2: %7,6). Dört ve sekizinci haftalarda belirgin bir değişiklik

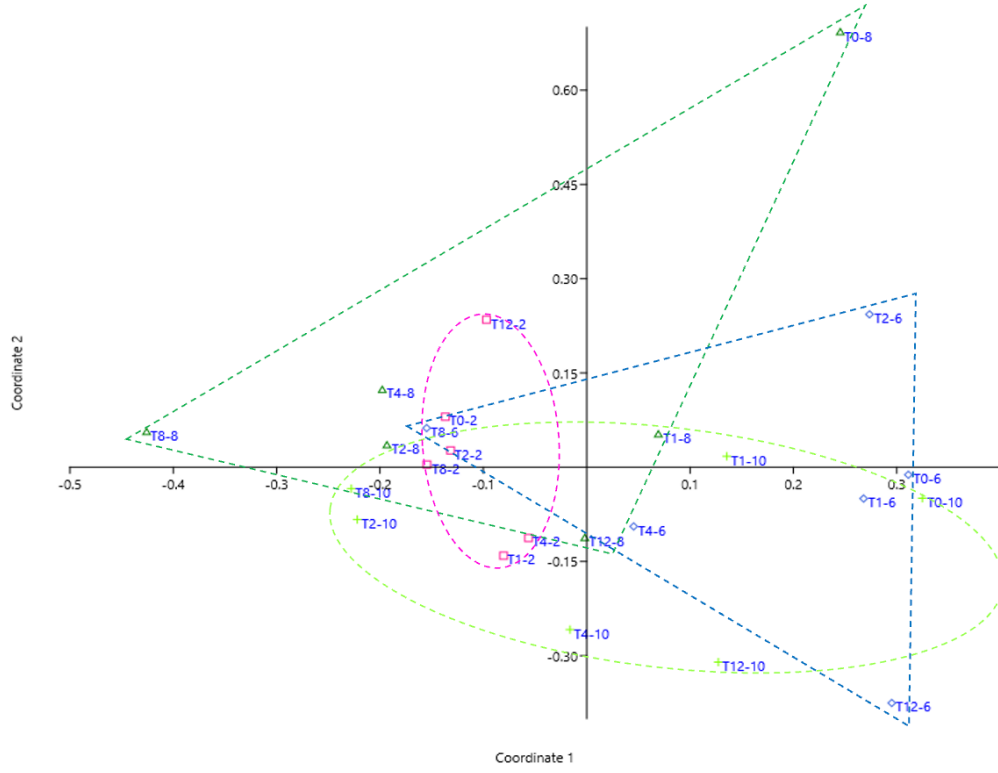
gözlemlenmemiştir (sırasıyla %6,0; %6,9). Deney sonunda artarak başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık iki katına ulaşmıştır (%18,7) (Şekil 3.6).

Actinobacteria, *Erysipelotrichi* ve *Sphingobacteriia* oranları kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiş ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (sırasıyla %2,9; %0,8; %0,5). MSG grubunda da *Actinobacteria* ve *Sphingobacteriia* oranları kontrol grubuna benzer bir seyir izlemiş, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üçte biri oranına düşmüştür (sırasıyla %3,3; %2,1). *Erysipelotrichi* oranı da dalgalı bir seyir izlemiş, deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun üzerine çıkmıştır (%8,2). LB grubunda ise aksi bir seyir görülmüştür, *Actinobacteria* ve *Sphingobacteriia* oranları başlangıçtaki nispi çokluğun üzerine çıkarken (sırasıyla %2,6; 2,3), *Erysipelotrichi* ise azalmıştır (%0,8). MSG+LB grubunda *Actinobacteria* oranında deney süresince bir miktar değişim gözlenmesine rağmen deney sonunda tekrar başlangıçtaki nispi çokluk seviyesini yakalamıştır (%4,3). *Erysipelotrichi* oranı deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altına düşerken (%1,8), *Sphingobacteriia* oranı ise artış göstermiştir (%2,1) (Şekil 3.6).

PCoA grafiğine göre kontrol grubunun müdahale gruplarına kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği, müdahale gruplarının dağılımının birbirine yakın olduğu görülmüştür (Şekil 3.7). Bu doğrultuda, müdahale gruplarının mikrobiyal kompozisyonunda kontrol grubuna göre belirgin değişimlerin olduğu anlaşılmaktadır. Kontrol grubunun T0 ve T12 değerlerinin tüm gruplar arasında birbirine en yakın, LB grubunun değerlerinin ise en uzak konumda olduğu görülmektedir. MSG ve MSG+LB gruplarının T0 ve T12 değerleri ise kontrol grubuna kıyasla birbirine daha uzak olmakla birlikte bu uzaklık LB grubuna kıyasla daha azdır. Tüm müdahale gruplarında kontrol grubuna kıyasla deney sonunda belirgin değişimin görüldüğü, en belirgin değişimin ise LB grubunda olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.6. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 sınıf. A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.7. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların sınıf Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında baskın takımların *Enterobacteriales*, *Clostridiales*, *Bacteriodales*, *Lactobacillales*, olduğu; bu takımları *Bacillales*, *Pseudomonadales*, *Erysipelotrichales*, *Sphingobacteriales* ve *Actinomycetales* takımlarının izlediği tespit edilmiştir (Şekil 3.8.). Kontrol grubu için başlangıç noktası takım dağılımı %46,4 *Enterobacteriales*, %11,9 *Lactobacillales*, %10,7 *Bacteriodales*, %8,0 *Clostridiales*, %3,8 *Sphingobacteriales*, %3,5 *Bacillales*, %3,4 *Actinomycetales*, %2,6 *Bifidobacteriales*, %1,7 *Erysipelotrichales*, ve %7,9 diğer takımlar olarak izlenmiştir. MSG grubunda takım dağılımı %28,6 *Clostridiales*, %15,9 *Bacteriodales*, %15,7 *Lactobacillales*, %6,7 *Sphingobacteriales*, %5,5 *Bifidobacteriales*, %5,1 *Bacillales*, %3,6 *Actinomycetales*, %3,3 *Erysipelotrichales*, %3,2 *Pelagicoccales* ve %12,5 diğer takımlar olarak tespit edilmiştir. LB grubunda başlangıç noktası dağılımı %45,3 *Bacillales*, %16,7 *Lactobacillales*, %15,6 *Clostridiales*, %4,6 *Gemellales*, %3,0 *Enterobacteriales*, %2,8 *Bacteriodales*, %1,7 *Erysipelotrichales*, %1,3 *Sphingobacteriales*, %1,0 *Pelagicoccales* ve %8,0 diğer takımlar şeklinde izlenmiştir. MSG+LB grubunda başlangıç zamanı takım dağılımı ise %39,9 *Clostridiales*, %17,4 *Lactobacillales*, %9,7 *Bacteriodales*, %7,0 *Erysipelotrichales*, %5,9 *Campylobacterales*, %3,6 *Bacillales*, %3,0 *Bifidobacteriales*, %2,1 *Enterobacteriales*, %1,5 *Actinomycetales* ve %9,9 diğer takımlar şeklinde tespit edilmiştir.

Kontrol grubunda başlangıçta %46,0 olan *Enterobacteriales* oranı sınırlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar düşüş gösterdikten (%38,5) sonra ikinci hafta artarak başlangıç değerine yaklaşmıştır (%45,6). Dördüncü haftada tekrar azalan oran (%40,3), sekizinci haftada bir kez daha başlangıç oranı yakalamıştır (%45,4). Deney sonunda tekrar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında tamamlamıştır (%40,6). MSG grubunda ilk iki hafta çok büyük değişim göstermeyen *Enterobacteriales* oranı (T0: %1,2; T1: %0,8; T2: %2,7) dördüncü haftada belirgin şekilde artarak %27,7'ye ulaşmıştır. Sekiz ve on ikinci haftalarda ise düşüş eğilimi göstermiştir (T8: %5,6; T12: %2,9). LB grubunda *Enterobacteriales* oranı oranın dördüncü haftaya kadar bir artış eğilimi göstermiştir (T0: %3,0; T1: %24,4; T2: %53,2; T4: %54,7). Sekiz ve on ikinci haftalarda azalmakla birlikte (T8: %49,8; T12: %30,2) başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık on katı bir oranda deney son bulmuştur (%30,2). MSG+LB grubunda ilk ve ikinci haftada belirgin bir şekilde artan (T0: %2,1; T1: %17,5; T2: %51,2) *Enterobacteriales* oranı dördüncü haftada düşüş (%31,3) gösterdikten sonra sekizinci haftada tekrar artarak ikinci hafta değerini aşmıştır (%53,6). Deney sonunda ise belirgin bir şekilde azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dokuz katı olduğu tespit edilmiştir (%17,8) (Şekil 3.8).

Clostridiales takımının değişimi kontrol grubunda haftalar arasında dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta üç katını aşacak şekilde artış gösterirken, ikinci haftada azalarak yarı oranına düşmüştür (T0: %8,0; T1: %30,0; T2: %16,3). Dördüncü hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (%24,2) sekizinci haftada tekrar azalarak ikinci hafta seviyesini yakalamıştır (%16,4). Deney sonunda bir miktar daha azalarak başlangıç noktasındaki nispi çokluğun yaklaşık iki katını yakalamıştır (%15,3). MSG grubunda *Clostridiales* takımında ilk hafta belirgin bir değişim gözlemlenmemiştir (T0: %28,6; T1: %29,9). İkinci haftadan sekizinci haftaya kadar bir azalma eğilimi görülmüş (T2: %25,6; T4: %23,8; T8: %19,7), deney sonunda ise belirgin bir artışla birlikte %42,3 oranına ulaşmıştır. LB grubunda ilk hafta *Clostridiales* oranında artış görülürken (T0: %15,6; T1: %21,5), ikinci haftadan başlayarak sekizinci haftaya kadar MSG grubu ile benzer şekilde azalma trendi görülmüştür (T2: %17,8; T4: %15,9; T8: %6,8). Deney sonunda artış göstererek başlangıç noktasındaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tamamlamıştır (%21,5). MSG+LB grubunda başlangıçta diğer gruplardan daha yüksek olan *Clostridiales* oranı (%39,9) ilk ve ikinci haftada belirgin bir şekilde azalmıştır (T1: %16,9; T2: %9,5). Dördüncü haftada ise belirgin bir şekilde artış göstererek başlangıç oranına yaklaşmıştır (%37,0). Sekizinci haftada görülen belirgin düşüşün (%12,0) ardından deney sonunda tekrar artarak başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir orana ulaşmıştır (%34,3) (Şekil 3.8).

Bacteriodales oranı kontrol grubu için ilk haftada yaklaşık beşte bir oranına inmiştir (T0: %11,9; T1: %3,8). İki ve dördüncü haftalarda bir miktar artış gösterdikten (T2: %6,0; T4: %8,1) sonra sekizinci haftada tekrar azalmıştır (%3,3). Deney sonunda ise artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısına ulaşmıştır (%5,8). MSG grubunda ilk hafta çok belirgin bir değişim gözlemlenmezken (T0: %15,9; T1: %17,5), ikinci haftada başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üçte birine düşmüştür (%5,8). Dördüncü hafta tekrar artarak başlangıç değerine yaklaşmış (%14,2), sekizinci haftada ise düşüş göstermiştir (%4,8). Deney sonunda ise tekrar artış göstererek başlangıç değerini yakalamıştır (%16,0). LB grubunda yaklaşık üç katına kadar artış göstermiş (T0: %2,8; T1: %9,1), ikinci haftada azalmış (%3,9) ve dördüncü haftada belirgin bir değişim görülmemiştir (%3,8). Sekizinci haftada bir miktar azalma gözlenirken (%1,4), deney sonunda belirgin bir artış ile başlangıçtaki nispi çokluğun yedi katına ulaşmıştır (%19,6). MSG+LB grubunda ilk hafta artış gösteren *Bacteriodales* oranı (T0: % 9,7; T1: %19,1) ikinci haftada azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun altına düşmüştür (%7,8). Dört ve sekizinci haftalarda çok belirgin bir değişim gözlemlenmemiştir (T4: %6,2; T8: %7,1). Deney sonunda ise tekrar artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun üzerine çıkmıştır (%16,9) (Şekil 3.8).

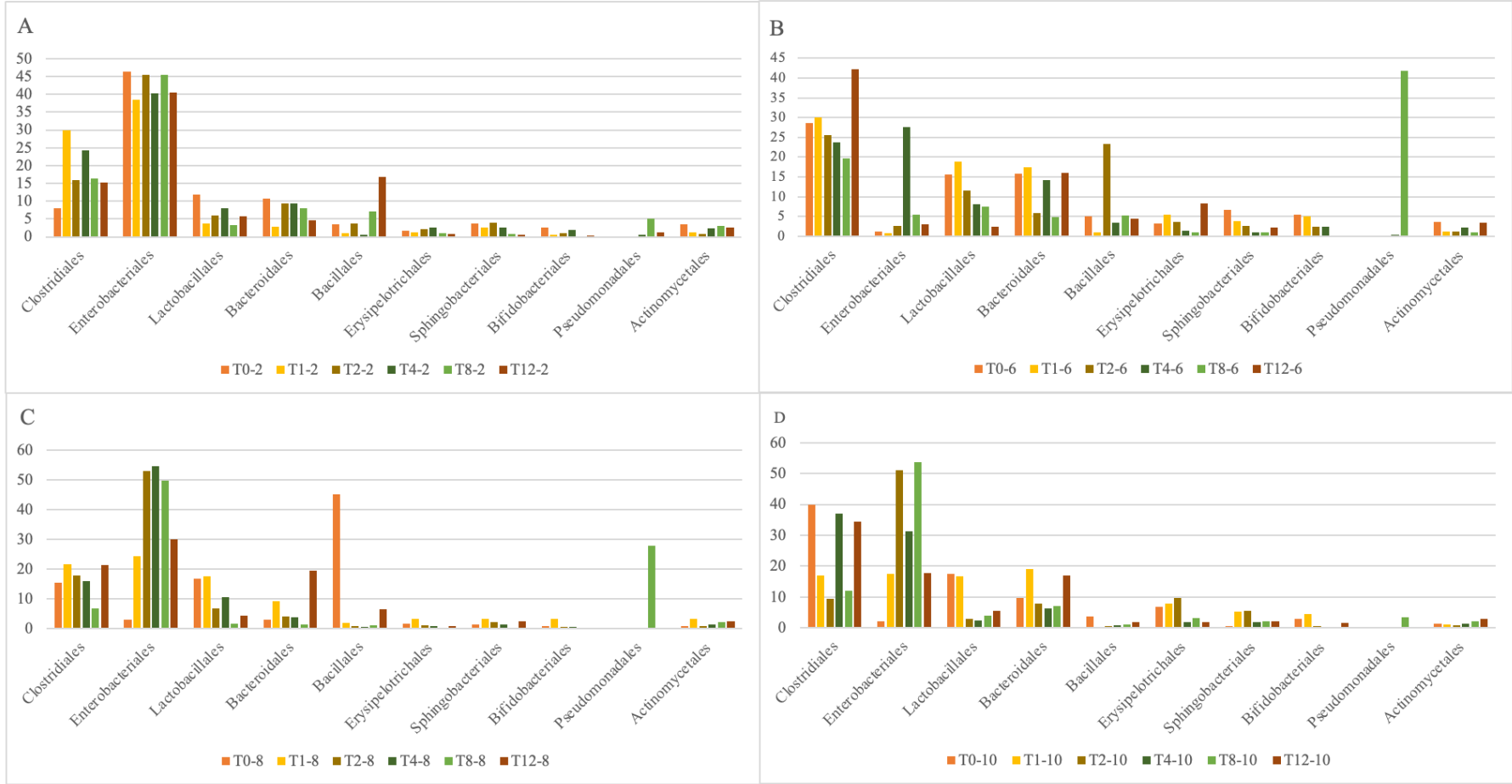
Kontrol grubu *Lactobacillales* oranı ilk haftada yaklaşık üçte birine düşmüş (T0: %11,9; T1: %3,8), iki ve dördüncü haftalarda bir miktar artmıştır (T2: %6,0; T4: %8,1). Sekizinci haftada ise tekrar azalarak birinci hafta seviyesine inmiştir (%3,3). Deney sonunda ise bir miktar artış göstermiş olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısı oranında kalmıştır (%5,8). MSG grubunda *Lactobacillales* oranı ilk haftada hafif bir artış gösterirken ikinci haftadan itibaren bir azalma eğilimi göstermiş (T2: %11,6; T4: %8,2; T8: %7,5), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun oldukça altına inmiştir (%2,5). LB grubunda *Lactobacillales* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta belirgin bir değişim olmazken (T0: %16,7; T1: %17,7), ikinci haftada azalma (%6,7), dördüncü haftada ise artış görülmüştür (%10,5). Sekizinci haftada tekrar azalarak %1,6 seviyesine inen *Lactobacillales* oranı deney sonunda bir miktar artarak başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dörtte biri oranına ulaşmıştır (%4,2). MSG+LB grubunda ilk hafta belirgin bir değişim olmazken (T0: %17,4; T1: %16,8), ikinci haftada yaklaşık beşte biri oranına düşmüştür (%3,0). Dört ve sekizinci haftalarda belirgin bir değişim olmamış (T4: %2,4; T8: %4,0), deney sonunda bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üçte biri oranında kalmıştır (%5,4) (Şekil 3.8).

Kontrol grubunda *Bacillales* oranı ilk hafta bir miktar azaldıktan (T0: %3,5; T1: %1,1) sonra ikinci hafta başlangıç seviyesini yakalamıştır (%3,8). Dördüncü haftada görülen azalmayı sekizinci haftada bir artış izlemiştir (T4: %0,6; T8: %7,0). On ikinci haftada da devam eden artış ile deney sonunda *Bacillales* oranı %16,0'ya ulaşmıştır. MSG grubunda ilk hafta görülen azalmayı (T0: %5,1; T1: 1,1) ikinci hafta artış takip etmiş ve *Bacillales* oranı en yüksek değerine ulaşmıştır (%23,3). Dördüncü haftada belirgin bir şekilde azalırken (%3,5), sekiz ve on ikinci haftada belirgin bir değişim gözlenmemiş ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğua yakın bir değer izlenmiştir (T8: 5,3; T12: %4,6). LB grubunda başlangıç değeri kontrol ve diğer müdahale gruplarına göre yüksek olan *Bacillales* takımı oranı (%45,3) ilk hafta belirgin bir şekilde düşmüştür (%1,9). Sekizinci haftaya kadar belirgin bir değişim gözlemlenmemiştir (T2: %0,7; T4: %0,6; T8: %1,0). Deney sonunda ise bir miktar artmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%6,5). MSG+LB grubunda ilk haftada azalma gösteren (T0: %3,6; T1: %0,4) *Bacillales* oranı sekizinci haftaya kadar belirgin bir değişim göstermemiştir (T2: %0,7; T4: %0,9; T8: %1,1). Deney sonunda %1,9'a ulaşarak başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında kalmıştır (Şekil 3.8).

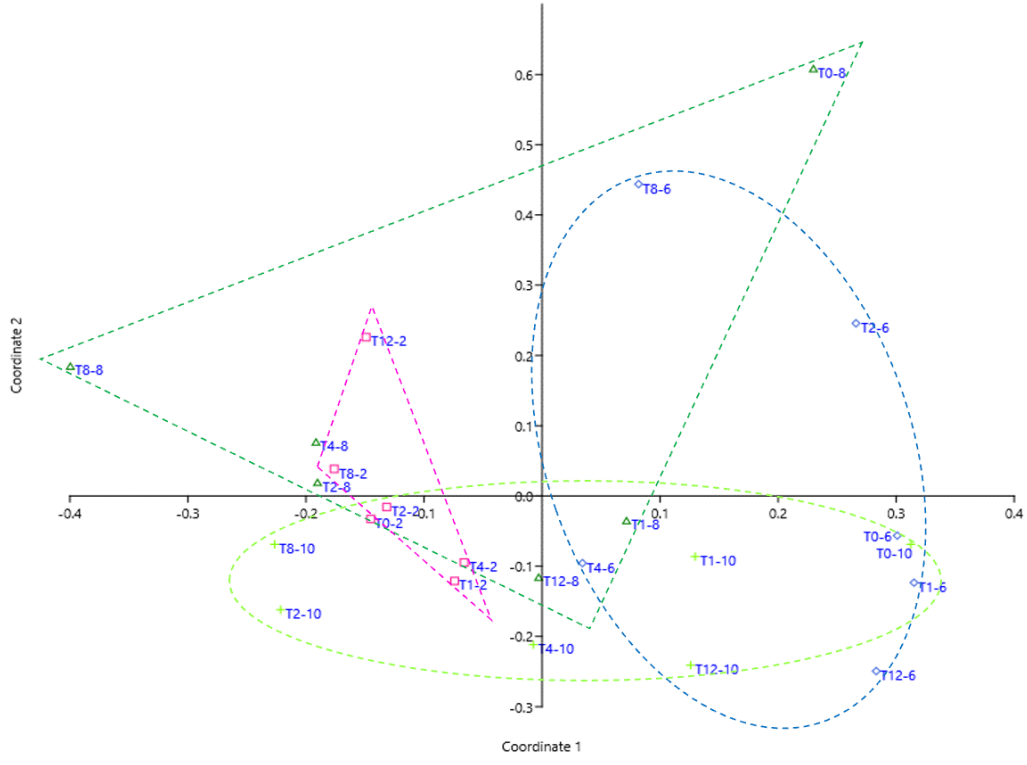
Deney süresince tüm gruplarda düşük seviyelerde izlenen *Pseudomonadales* oranı, sekizinci haftada MSG ve LB gruplarında görece yüksek değerlere ulaşırken (sırasıyla %41,9 ve %28,9) deney sonunda bu gruplarda varlığı tespit edilememiş, diğer gruplarda da düşük

seviyelerde izlenmiştir (Kontrol: %1,3, MSG+LB: %0,3). Kontrol ve müdahale gruplarında yukarıda belirtilen takımların yanı sıra yaygın bir diğer takım olan *Erysipelotrichales* kontrol grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izledikten sonra, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısına düşmüştür (%0,9). Müdahale gruplarında da benzer bir şekilde kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izledikten sonra MSG grubunda deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katını aşmış (%8,3), LB grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısında izlenmiş (%0,8), MSG+LB grubunda da başlangıçtaki nispi çokluğun altına inmişti (%1,8). Bir diğer yaygın olan takım *Sphingobacteriales* kontrol grubunda ikinci haftaki bir miktar artış hariç diğer haftalarda azalma eğilimi göstermiş, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%0,6). MSG grubunda son haftaya kadar azalma eğiliminde olup, deney sonunda bir miktar artış göstermiş olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üçte biri olarak izlenmiştir. LB grubunda ilk hafta görülen artış sonrasında azalma trendi göstermiş, deney sonunda artarak başlangıçta nispi çokluğun bir miktar üzerinden gözlenmiştir (%2,4). MSG+LB grubunda dalgalı bir seyir izleyen *Sphingobacteriales* oranı deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun üç katını aşmıştır (%2,2) (Şekil 3.8).

Kontrol ve müdahale gruplarına ait takım PCoA grafiği incelendiğinde kontrol grubunun müdahale gruplarına kıyasla oldukça kümeli bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 3.9). MSG+LB grubu MSG ve LB gruplarına göre bir miktar daha kümeli kümeli dağılım göstermekte birlikte, müdahale gruplarında kontrol grubuna göre belirgin bir mikrobiyota kompozisyonu değişimi gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Grupların T0 ve T12 değerleri incelendiğinde ise kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında bu noktalar arasındaki uzaklığın birbirine benzer şekilde LB grubuna kıyasla daha yakın olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda deney sonunda LB grubunda diğer gruplara kıyasla en belirgin değişimin görüldüğü anlaşılmaktadır.



Şekil 3.8. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.9. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların takım Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında baskın familyaların *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Lactobacillaceae*, ve *Bacteroidaceae* olduğu ve bu familyaları *Veillonellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Moraxellaceae*, ve *Sphingobacteriaceae* familyalarının izlediği tespit edilmiştir (Şekil 3.10). Kontrol grubu için başlangıç noktası familya dağılımı %48,0 *Enterobacteriaceae*, %10,3 *Lactobacillaceae*, %4,7 *Bacteroidaceae*, %3,5 *Sphingobacteriaceae*, %2,7 *Bifidobacteriaceae*, %2,5 *Lachnospiraceae* ve %28,3 diğer takımlar olarak izlenmiştir. MSG grubunda başlangıç noktası familya dağılımı %14,4 *Lactobacillaceae*, %11,8 *Clostridiaceae*, %9,6 *Veillonellaceae*, %6,8 *Sphingobacteriaceae*, %6,6 *Bacteroidaceae*, %5,8 *Bifidobacteriaceae* ve %45,0 diğer takımlar olarak saptanmıştır. LB grubunda bu dağılım %24,1 *Bacillaceae*, %19,8 *Paenibacillaceae*, %14,4 *Lactobacillaceae*, %8,2 *Clostridiaceae* %4,8 *Gemellaceae*, %4,7 *Lachnospiraceae* ve %24,1 diğer takımlar olarak görülmüştür. MSG+LB grubunda ise %26,4 *Lachnospiraceae*, %14,6 *Lactobacillaceae*, %8,2 *Clostridiaceae*, %7,1 *Erysipelotrichaceae*, %5,8 *Helicobacteraceae*, %5,1 *Bacteroidaceae* ve %32,7 diğer takımlar olarak izlenmiştir.

Enterobacteriaceae oranının kontrol grubunda zamanla değişimi dalgalı bir seyir izlemiştir. Birbirini izleyen zaman noktalarında tekrarlayan bir azalma-artma döngüsünü takiben (T0: %48,9; T1: %39,3; T2: %46,3; T4: 41,5; T8: %46,2) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında tamamlamıştır (%41,8). MSG grubunda da dalgalı bir seyir izleyen (T0: %1,3; T2: %0,8; T2: 2,7) *Enterobacteriaceae* oranı dördüncü haftada en yüksek değerine (%29,0) ulaşmakla birlikte deney sonunda tekrar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%3,1). LB grubunda ilk ve ikinci haftada belirgin şekilde artış (T0: %3,1; T1: %25,5; T2: %53,8) gösteren *Enterobacteriaceae* oranı dört ve sekizinci haftalarda çok belirgin bir değişim göstermemiştir (T4: %55,5; T8: %50,3). Deney sonunda ise azalmasına rağmen başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık on katı seviyesine ulaşmıştır (%31,7). MSG+LB grubunda *Enterobacteriaceae* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk ve ikinci haftalarda belirgin şekilde artış gösteren (T0: %2,1; T1: %18,0; T2: %52,0) oran dördüncü haftada azalarak %32,1 olarak izlenmiştir. Sekizinci hafta tekrar görülen artışı (%32,1), deney sonunda azalma takip etmiş olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dokuz katına ulaşmıştır (%18,6) (Şekil 3.10).

Kontrol grubunda *Lachnospiraceae* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık altı katına ulaşan oran, ikinci hafta azalarak başlangıç değerine yaklaşmıştır (T0: %2,5; T1: %12,4; T2: 2,8). Dördüncü haftada bir miktar artarken sekizinci haftada tekrar azalma görülmüştür (T4: %5,4; T8: %2,6). Deney sonunda bir miktar

artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun iki katına ulaşmıştır (%5,4). MSG grubunda dördüncü haftaya kadar düşük miktarlarda artış gösteren oran (T0: %4,8; T1: %5,8; T2: %7,0; T4: %7,8) sekizinci hafta bir miktar azalmıştır (%5,4). Deney sonunda ise belirgin bir artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun beş katı olarak izlenmiştir (%24,4). LB grubunda *Lachnospiraceae* oranı kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir (T0: %4,7; T1: %6,5; T2: %2,8; T4: %5,6; T8: %1,4) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında tespit edilmiştir (%3,3). MSG+LB grubunda başlangıçtaki oranı kontrol ve diğer müdahale gruplarına kıyasla daha yüksek olan (%26,4) *Lachnospiraceae* ilk hafta belirgin bir şekilde azalma göstermiş (%4,0), azalma eğilimi ikinci haftada da devam etmiştir (%1,5). Dördüncü hafta itibarıyla dalgalı bir seyir gösteren oran (T4: %15,7; T8: %2,3) deney sonunda %11,6 seviyesine ulaşmıştır (Şekil 3.10).

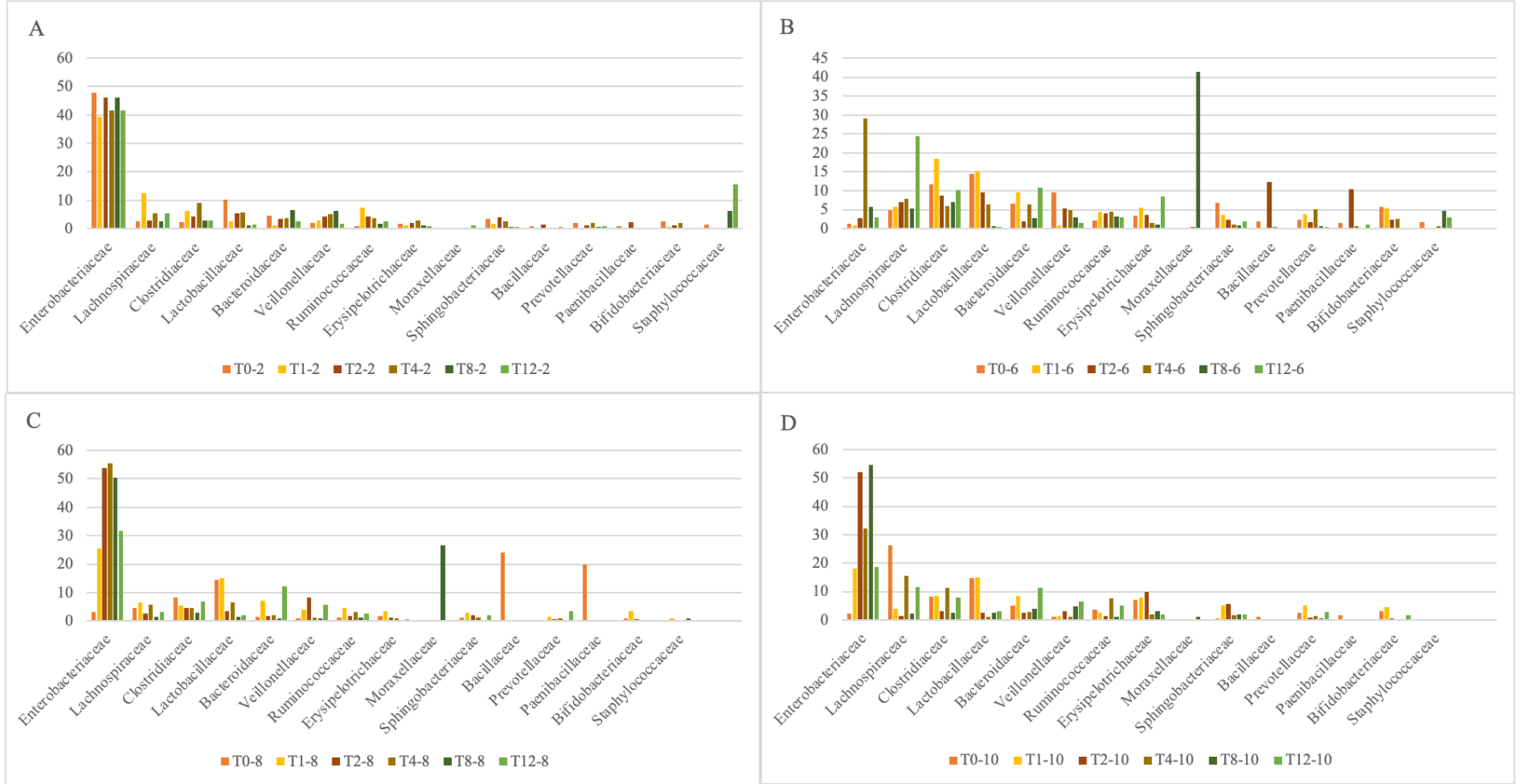
Clostridiaceae oranı kontrol ve müdahale gruplarında dalgalı bir seyir gösterdikten sonra başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın değerlere ulaşmıştır (Kontrol: %3,6; MSG: %10,2; LB: %6,8; MSG+LB: %8,0) (Şekil 3.10).

Lactobacillaceae oranı kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir (T0: %10,3; T1: %2,6; T2: %5,3; T4: %5,6; T8: %1,1) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yedide biri oranında tespit edilmiştir (%1,5). MSG grubunda *Lactobacillaceae* oranı ilk hafta bir miktar arttıktan sonra (T0: %14,4; T1: %15,0) deneyin geri kalanında azalma eğilimi göstermiştir (T2: %9,6; T4: 6,3; T8: 0,7; T12: %0,4). LB grubunda kontrol grubuna benzer şekilde dalgalı bir seyir izleyen *Lactobacillaceae* oranı (T0: %14,4; T1: %15,0; T2: %3,5; T4: %6,4; T8: %1,4) deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%2,0). MSG+LB grubunda ilk hafta belirgin bir değişim göstermeyen (T0: %14,6; T1: %14,9) *Lactobacillaceae* oranı iki ve dördüncü haftalarda azalma eğilimi göstermiştir (T2: %2,5; T4: %1,1). Sekiz ve on ikinci haftalarda bir miktar artış göstermekle birlikte deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (T8: %2,7; T12: %3,1) (Şekil 3.10).

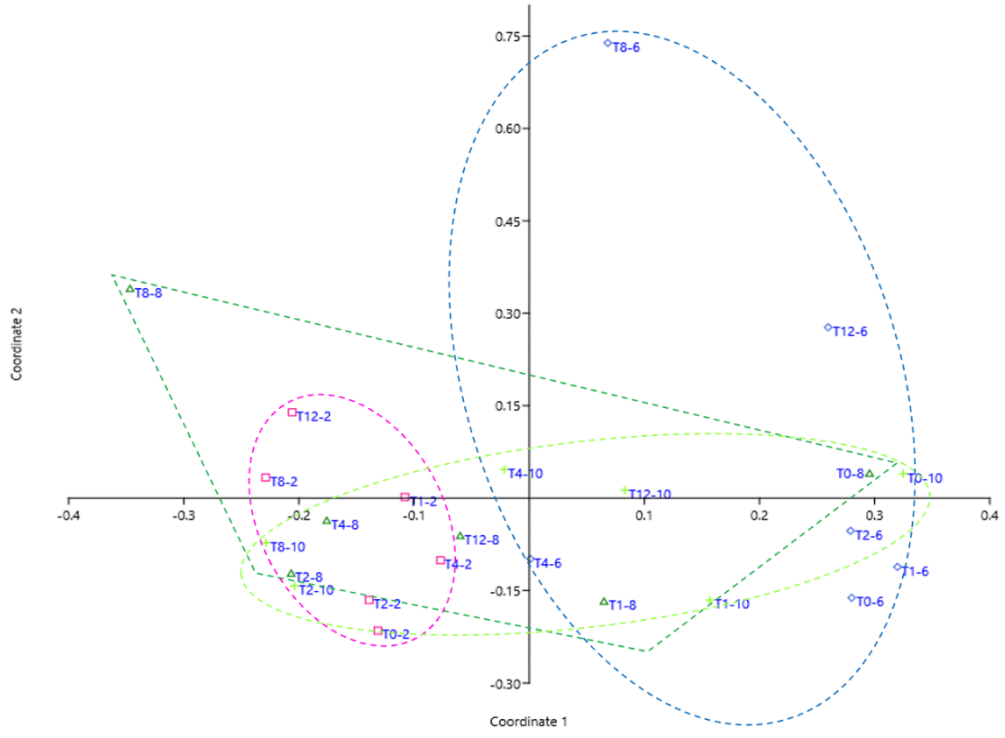
Bacteroidaceae oranı kontrol ve müdahale gruplarında dalgalı bir seyir izlemiştir. Kontrol grubunda deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalırken (%2,6), MSG, LB ve MSG+LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde izlenmiştir (sırasıyla %10,8; %12,1; %11,4). *Veillonellaceae* oranı kontrol grubunda sekizinci haftaya kadar artış eğilimi göstermiş, deney sonunda ise azalarak başlangıçtaki nispi çokluğa ulaşmıştır (%1,9). MSG grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun altına inerken (%1,5), LB ve MSG+LB gruplarında ise başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde deney sonlanmıştır (sırasıyla %5,8;

%6,5). *Ruminococcaceae* oranı tüm gruplar için dalgalı bir seyir izledikten sonra deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (Kontrol: %2,6; MSG: %3,1; LB: %2,5; MSG+LB: %5,1). Deney boyunca kontrol ve müdahale gruplarında dalgalı bir seyir izleyen *Erysipelotrichaceae* oranı deney sonunda MSG grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun üzerine çıkarken (%8,5), diğer gruplar için başlangıç değerinin altına düştüğü görülmüştür (Kontrol: %0,9; LB: %0,8; MSG+LB: %1,9) (Şekil 3.10).

Kontrol ve müdahale grupları familya dağılımını gösteren PCoA grafiği incelendiğinde, kontrol grubunun diğer gruplara kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği izlenmiştir (Şekil 3.11). Müdahale grupları dağılımı ise birbirine benzer olduğu, MSG+LB grubunun diğer müdahale gruplarına kıyasla bir miktar daha kümeli olduğu gözükmemektedir. Dolayısıyla müdahale gruplarında kontrol grubuna göre familya kompozisyonunda deney boyunca belirgin değişimlerin gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Grupların T0 ve T12 değerlerinin konumu incelendiğinde kontrol, LB ve MSG+LB gruplarında değerlerin birbirine uzaklığının benzer olduğu, MSG grubunda ise bu uzaklığın diğer gruplara kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda MSG grubunda kontrol ve diğer müdahale gruplarına kıyasla deney sonunda belirgin bir değişimin görülmüş olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.10. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.11. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların familya Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında baskın cinslerin *Escherichia*, *Bacteroides*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Serratia*, *Veillonella* olduğu ve bu cinsleri *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Allobaculum*, *Alkaliphilus* cinslerinin izlediği tespit edilmiştir (Şekil 3.12.). Kontrol grubu için başlangıç noktası cins dağılımı %33,8 *Echerichia*, %9,4 *Lactobacillus*, %5,8 *Bacteroides*, %4,3 *Serratia*, %3,3 *Bifidobacterius*, %2,7 *Pediococcus*, %2,7 *Prevotella*, %2,2 *Blautia* ve %35,8 diğer cinsler olarak izlenmiştir. MSG grubunda %11,3 *Lactobacillus*, %9,6 *Veillonella*, %8,7 *Alkaliphilus*, %7,1 *Bacteroides*, %6,2 *Bifidobacterium*, %3,7 *Blautia*, %3,6 *Allobaculum*, %3,5 *Pelagicoccus*, %3,3 *Olivibacter* ve %42,9 diğer cinsler olarak tespit edilmiştir. LB grubunda cins dağılımı %24,8 *Bacillus*, %20,4 *Paenibacillus*, %0,5 *Pediococcus*, %5,1 *Lactobacillus*, %5,0 *Gemella*, %4,1 *Alkaliphilus*, %3,6 *Blautia*, %3,4 *Clostridium*, %2,2 *Streptococcus* ve %22,1 diğer cinsler olarak saptanmıştır. MSG+LB grubunda ise bu dağılım %21,1 *Blautia*, %11,9 *Lactobacillus*, %7,4 *Allobaculum*, %5,8 *Helicobacter*, %5,4 *Bacteroides*, %3,4 *Clostridium*, %3,3 *Oscillospira*, %3,2 *Bifidobacterium* ve %38,5 diğer cinsler olarak saptanmıştır.

Escherichia oranı kontrol grubunda birbirini izleyen zaman noktalarında bir azalma-artma örüntüsü izlemiştir (T0: %33,8; T1: %25,7; T2: %32,6; T4: %24,8; T8: %27,7). Deney sonunda %20,8 seviyesine düşerek başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır. Kontrol grubuna kıyasla başlangıç oranı düşük olan MSG grubunda ilk iki haftada belirgin bir değişiklik olmamıştır (T0: %0,4; T1: %0,3; T2: %1,2). Dördüncü haftada belirgin bir biçimde artış görüldükten (%15,9) sonra sekiz ve on ikinci haftalarda oran tekrar azalarak (T8: %1,8; T12: %1,2) başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değere ulaşmıştır. LB grubunda *Escherichia* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk ve ikinci haftalarda belirgin şekilde artış gösteren oran (T0: %1,2; T1: %9,9; T2: %37,0), dördüncü haftada bir miktar da arttıktan (%39,3) sonra sekizinci haftada azalma göstermiştir (%24,3). Deney sonunda ise tekrar azalmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun on dört katı olarak tamamlamıştır (%16,8). MSG+LB grubunda LB grubuna benzer şekilde dalgalı bir seyir izlenmiştir. İlk ve ikinci haftalarda görülen belirgin artışı (T0: %0,8; T1: %10,6; T2: %36,8), dördüncü hafta bir azalma takip etmiştir (%20,7) . Sekizinci hafta tekrar artan oran (%32,9), son haftada tekrar belirgin bir şekilde azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde kalmıştır (%9,8) (Şekil 3.12).

Bacteroides oranı kontrol grubunda ilk hafta bir miktar azalmış (T0: %5,8; T1: %1,4), bunu takiben sekizinci haftaya kadar artış eğilimi göstermiştir (T2: %4,4; T4: %4,9; T8: %8,0). Deney sonunda ise tekrar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun altında tamamlamıştır (%3,2). MSG grubunda, kontrol grubu başlangıç değerine yakın olan *Bacteroides* oranı (%7,1) deney

boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir (T1: %10,3; T2: %2,2; T4: 7,7; T8: %3,0; T12: %11,4). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük bir başlangıç değerine sahip (%1,5) olan *Bacteroides* oranı yine dalgalı bir seyir izlemiştir (T1: %8,1; T2: %2,2; T4: 2,5; T8: %1,2). Deney sonunda artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dokuz katı olarak izlenmiştir (%14,2). MSG+LB grubu başlangıç zamanı *Bacteroides* oranının (%5,4) diğer gruplar ile benzer olduğu görülmüştür. İlk hafta artış gösteren oran (%9,6) ikinci hafta üçte biri oranına düştükten sonra (%3,1) tekrar artış eğilimine girmiştir (T4: %3,5; T8: 5,0). Deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinden olarak izlenmiştir (%12,8) (Şekil 3.12).

Kontrol grubunda *Blautia* oranı kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta artış gösteren oran ikinci haftada azalarak başlangıç değerine yaklaşmıştır (T0: %2,2; T1: %8,5; T2: %2,8). Dördüncü haftada tekrar bir miktar artış gösterdikten (%5,4) sonra sekizinci haftada azalarak başlangıç seviyesine yaklaşmıştır (%2,5). Deney sonunda tekrar artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinden tamamlamıştır (%4,9). MSG grubunda dördüncü haftaya kadar bir artış eğilimi gözlenmiştir (T0: %3,7; T1: %4,8; T2: %5,1; T4: %7,3). Sekizinci haftada bir miktar azalan oran deney sonunda belirgin bir artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun altı katının üzerinde tamamlamıştır (%22,9). LB grubunda *Blautia* oranı kontrol grubuna benzer şekilde kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar artış gösterdikten sonra ikinci hafta oran azalmıştır. Dördüncü haftada tekrar artarak ilk hafta seviyesine yaklaşmıştır (%5,1). Dördüncü haftada tekrar azalan oran (%1,1) deney sonunda artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğa yaklaşmıştır (%3,2). Başlangıç zaman *Blautia* oranı diğer gruplara kıyasla yüksek olan MSG+LB grubunda ilk iki haftada bir azalma eğilimi gözlenmiştir (T0: %21,1; T1: %3,2; T2: %1,4). Dördüncü haftada artan oran sekizinci haftada tekrar azalmıştır (T4: %12,1; T8: %2,1). Deney sonunda bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üçte biri olarak tamamlamıştır (%7,0) (Şekil 3.12).

Kontrol grubu için *Lactobacillus* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta azalan oran (T0: %9,4; T1: %2,6), iki ve dördüncü haftalarda artış göstermiştir (T2: %3,4; T4: %5,1). Sekizinci hafta tekrar azaldıktan (%0,4), sonra deney sonunda bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (%1,1). Başlangıç *Lactobacillus* oranı kontrol grubu ile benzer olan MSG grubunda ilk hafta belirgin bir değişiklik olmamıştır (T0: %11,3; T1: %12,0). İkinci hafta yarı oranının altına düşmüş (%4,2), dördüncü hafta ise çok belirgin bir değişiklik görülmemiştir (%5,5). Sekiz ve on ikinci haftalara görülen azalma ile

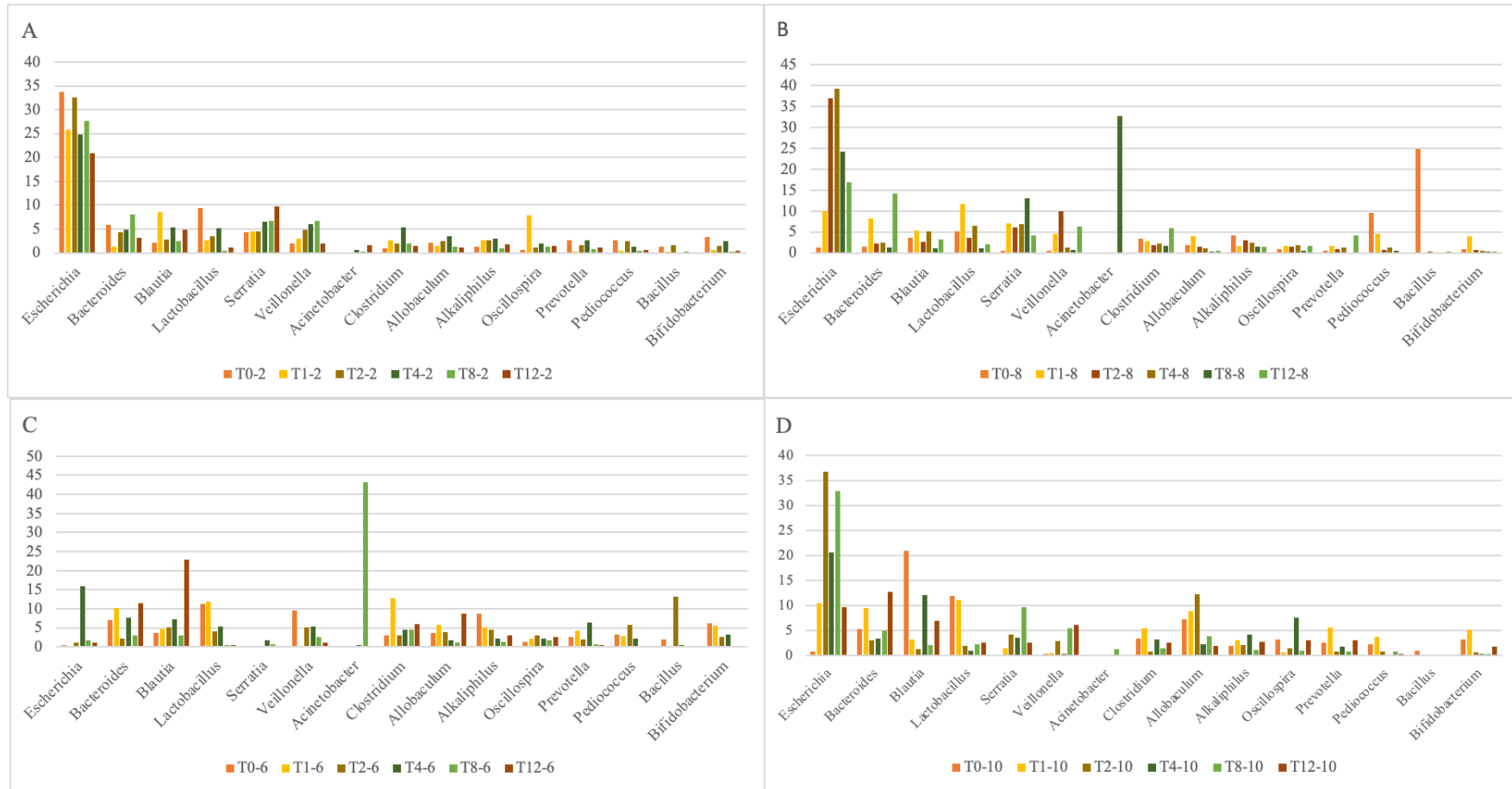
birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında tamamlanmıştır (T8: %0,6; T12: %0,4). Başlangıç *Lactobacillus* oranı kontrol ve MSG gruplarının yaklaşık yarı değerinde olan (%5,1) LB grubunda dalgalı bir seyir izlenmiş (T1: %11,6; T2: %3,7; T4: %6,6), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (%2,1). Başlangıç zamanı *Lactobacillus* oranı kontrol ve MSG grupları ile benzer olan MSG+LB grubunda (%11,9) ilk hafta belirgin bir değişim gözlemlenmemiştir (%11,1). İkinci haftada azalan oran (%2,0), dördüncü hafta bir miktar azaldıktan (%1,1) sonra sekizinci hafta itibarıyla artış göstermiş olmakla birlikte deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (T8: %2,1; T12: %2,6) (Şekil 3.12).

Serratia oranlarının kontrol ve müdahale gruplarında deney boyunca dalgalı bir seyir izledikten sonra başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde bir değer ulaştığı görülmüştür (Kontrol: %9,8; MSG: %0,2; LB: %4,2; MSG+LB: %2,6). Kontrol grubunda sekizinci haftaya kadar artış eğilimi gösteren *Veillonella* oranı deney sonunda azalarak başlangıçtaki nispi çokluğu yakalamıştır. MSG grubunda ise dalgalı bir seyir izlenmiş, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında bir oran tespit edilmiştir (%1,2). LB ve MSG+LB gruplarında da dalgalı bir seyir izleyen *Veillonella* oranı deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde tespit edilmiştir (sırasıyla %6,3 ve %6,1). MSG ve LB gruplarında sekizinci haftada diğer haftalara kıyasla yüksek değerlere ulaşan *Acinetobacter* oranı (sırasıyla %43,2 ve %32,6), genel olarak düşük seviyelerde izlenmiş; deney sonunda MSG ve LB gruplarında miktarı tespit edilememiş, kontrol grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde, MSG+LB grubunda ise altında olarak izlenmiştir (sırasıyla %1,6 ve 0,05). Kontrol, MSG ve LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tamamlayan *Clostridium* oranı (sırasıyla %1,4; %6,0; %5,9) MSG+LB grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%2,6). *Allobaculum* oranları tüm gruplarda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlenmiş, deney sonunda MSG grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun üzerine çıkarken (%8,8) diğer gruplarda altında kalmıştır (Kontrol: %1,1; LB: %0,5; MSG+LB: %2,0). *Alkaliphilus* oranları tüm gruplarda dalgalı bir seyir izledikten sonra deney sonunda kontrol ve MSG+LB gruplarında başlangıçtaki çokluğun üzerine çıkarak, MSG ve LB gruplarında ise altına inerek birbirine yakın oranlara ulaşmıştır (Kontrol: %1,8; MSG: %2,9; LB: %1,4; MSG+LB: %2,7) (Şekil 3.12).

Deney grupları örneklerinin cins dağılımının incelendiği PCoA grafiğine göre kontrol grubunun diğer gruplara kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği; müdahale gruplarının dağılımının ise birbirine benzer olduğu görülmektedir (Şekil 3.13). Bu doğrultuda, müdahale gruplarında kontrol grubuna göre deney boyunca belirgin değişimlerin gerçekleştiği

anlaşılmaktadır. Tüm grupların T0 ve T12 zamanı örnekleri arasındaki uzaklığın birbirine benzer olduğu, dolayısıyla gruplarda deney sonunda görülen değişimin birbirine benzer olduğu saptanmıştır.





Şekil 3.12. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 15 cins A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim

Kontrol ve müdahale gruplarında başlıca baskın türün *Escherichia albertii* olduğu, bunu *Serratia entomophila*, *Allobaculum stercoricanis*, *Veillonella criceti*, *Alkaliphilus crotonatoxidans*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Paenibacillus cellulosilyticus*, *Blautia coccoides* ve *Bacteroides sartorii* türlerinin izlediği tespit edilmiştir (Şekil 3.14.). Kontrol grubu için başlangıç noktası tür dağılımı %42,4 *Escherichia albertii*, %5,5 *Serratia entomophila*, %3,0 *Bifidobacterium choerinum*, %2,7 *Pediococcus argentanicus*, %2,7 *Allobaculum stercoricanis*, %2,3 *Lactobacillus antri*, %2,3 *Lactobacillus vaginalis*, %2,1 *Vibrio pectenicida* ve %37,1 diğer türler olarak izlenmiştir. MSG grubunda %12,7 *Veillonella criceti*, %10,7 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %6,8 *Bifidobacterium choerinum*, %5,4 *Allobaculum stercoricanis*, %3,1 *Pediococcus argentanicus*, %2,4 *Lactobacillus johnsonii*, %2,4 *Parapedobacter koreensis*, %2,3 *Lactobacillus vaginalis*, %2,3 *Lactobacillus ultunensis* ve %54,2 diğer cinsler olarak tespit edilmiştir. LB grubunda %33,7 *Paenibacillus cellulosilyticus*, %13,8 *Pediococcus cellicola*, %8,3 *Gemella cunicula*, %2,9 *Allobaculum stercoricanis*, %2,3 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %2,1 *Escherichia albertii*, %2,1 *Bacillus coahuilensis*, %2,0 *Clostridium histolyticum*, %2,0 *Streptococcus bovis* ve %30,8 diğer türler olarak tespit edilmiştir. MSG+LB grubunda %11,9 *Allobaculum stercoricanis*, %10,1 *Blautia coccoides*, %4,0 *Bifidobacterium choerinum*, %3,9 *Lactobacillus hayakitensis*, %3,6 *Lactobacillus johnsonii*, %3,1 *Pediococcus argentanicus*, %2,5 *Lactobacillus antri*, %2,5 *Oribacterium sinus*, %2,3 *Bacteroides sartorii*, %2,3 *Peptoniphilus methioninivorax* ve %53,7 diğer türler olarak saptanmıştır (Şekil 3.14).

Kontrol grubunda başlangıç zamanında baskın bir çokluğa (%42,4) sahip olan *Escherichia albertii* oranı deney süresince dalgalı bir seyir izlemiştir (T1: %37,7; T2: %39,8; T4: %31,2; T8: %35,4) . Deney sonunda ise azalma göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun yarısının bir miktar üzerinde tamamlamıştır (%26,9). MSG grubunda düşük seviyede başlayan *Escherichia albertii* oranı (%0,7), deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir (T1: %0,5; T2: %1,9), dördüncü haftada en üst değerine ulaşmış (%22,1), sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar azalma göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (T8: %2,7; T12: %1,8). LB grubunda benzer şekilde dalgalı bir seyir izleyen *Escherichia albertii* oranı (T0: %2,1; T1: %11,9; T2: 46,7), dördüncü haftada en yüksek değerine ulaşmış (%47,6), sekiz ve on ikinci haftalarda azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık on bir katı olarak izlenmiştir (T8: %31,0; T12: 23,3). MSG+LB grubunda da benzer şekilde dalgalı bir seyir takip eden *Escherichia albertii* oranı (T0: %1,4; T1: %14,2) ikinci haftada en yüksek değerine ulaşmıştır (%44,1). Dördüncü haftada görülen düşüşü (%30,5), sekizinci haftada

tekrar bir artış izlemiştir (%39,4). Deney sonunda oran tekrar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun dokuz katının üzerinde tamamlamıştır (%13,2) (Şekil 3.14).

Serratia entomophila kontrol grubunda ikinci haftada görülen kısmi düşüşün haricinde bir artış eğilimi takip etmiştir (T0: %5,5; T1: %6,9; T2: %5,6; T4: %7,9; T8: 8,7) . Deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinde izlenmiştir (%13,6). MSG grubunda oldukça kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Serratia entomophila* oranı (T0: %0,2; T1: %0,2; T2: 0,6) dördüncü hafta en yüksek değerine ulaştıktan (%2,8) sonra deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değere ulaşmıştır (%0,3). LB grubunda sekizinci haftaya kadar genel olarak bir artış eğiliminde olan *Serratia entomophila* oranı (T0: %0,9; T1: %8,9; T2: 7,9; T4: 8,7; T8: 8,7) deney sonunda düşüş göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yirmi katına ulaşmıştır (%5,9). MSG+LB grubunda da LB grubuna benzer şekilde sekizinci haftaya kadar bir artış eğilimi göstermiş (T0: %0,4; T1: %1,9; T2: %5,2; T4: %5,4; T8: %12,0), deney sonunda azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde kalmıştır (%3,9) (Şekil 3.14).

Allobaculum stercoricanis oranı kontrol grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir (T0: %2,7; T1: %2,1; T2: %3,1; T4: %4,5; T8: 1%1,5) izledikten sonra deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında tespit edilmiştir (%1,5). MSG grubu için *Allobaculum stercoricanis* oranı kontrol grubunda olduğu gibi dalgalı bir seyir izlemiş (T0: %5,4; T1: %8,5; T2: %6,1; T4: %2,8; T8: %1,6), deney sonunda ise artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun üç katına yaklaşmış olarak izlenmiştir (%15,0). LB grubundailk hafta bir miktar yükselerek en yüksek değerine ulaştıktan sonra azalan *Allobaculum stercoricanis* oranı deney sonunda da çok büyük değişiklik göstermemiş ve başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dörtte biri olarak izlenmiştir (%0,7). MSG+LB grubunda ilk hafta çok belirgin değişikik göstermeyen *Allobaculum stercoricanis* oranı (T0: %11,9; T1: %11,7) deneyin devamında dalgalı bir seyir izlemiş (T2: %14,7; T4: %3,5; T8: %4,4), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun dörtte biri olarak tepsit edilmiştir (%3,0) (Şekil 3.14).

Kontrol grubunda dördüncü haftaya kadar artış eğiliminde olan *Veillonella criceti* oranı (T0: %1,1; RT1: %3,4; T2: 5,1; T4: %5,8) sekizinci hafta itibariyle azalmaya başlamış (%5,6) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde izlenmiştir (%1,9). MSG grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek bir başlangıç değeri olan *Veillonella criceti* oranı (%12,7) deney boyunca dalgalı bir seyir takip etmiştir (T2: %6,6; T4: %2,8; T8: 3,4). Deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun onda birinin altında görülmüştür (%1,1). LB

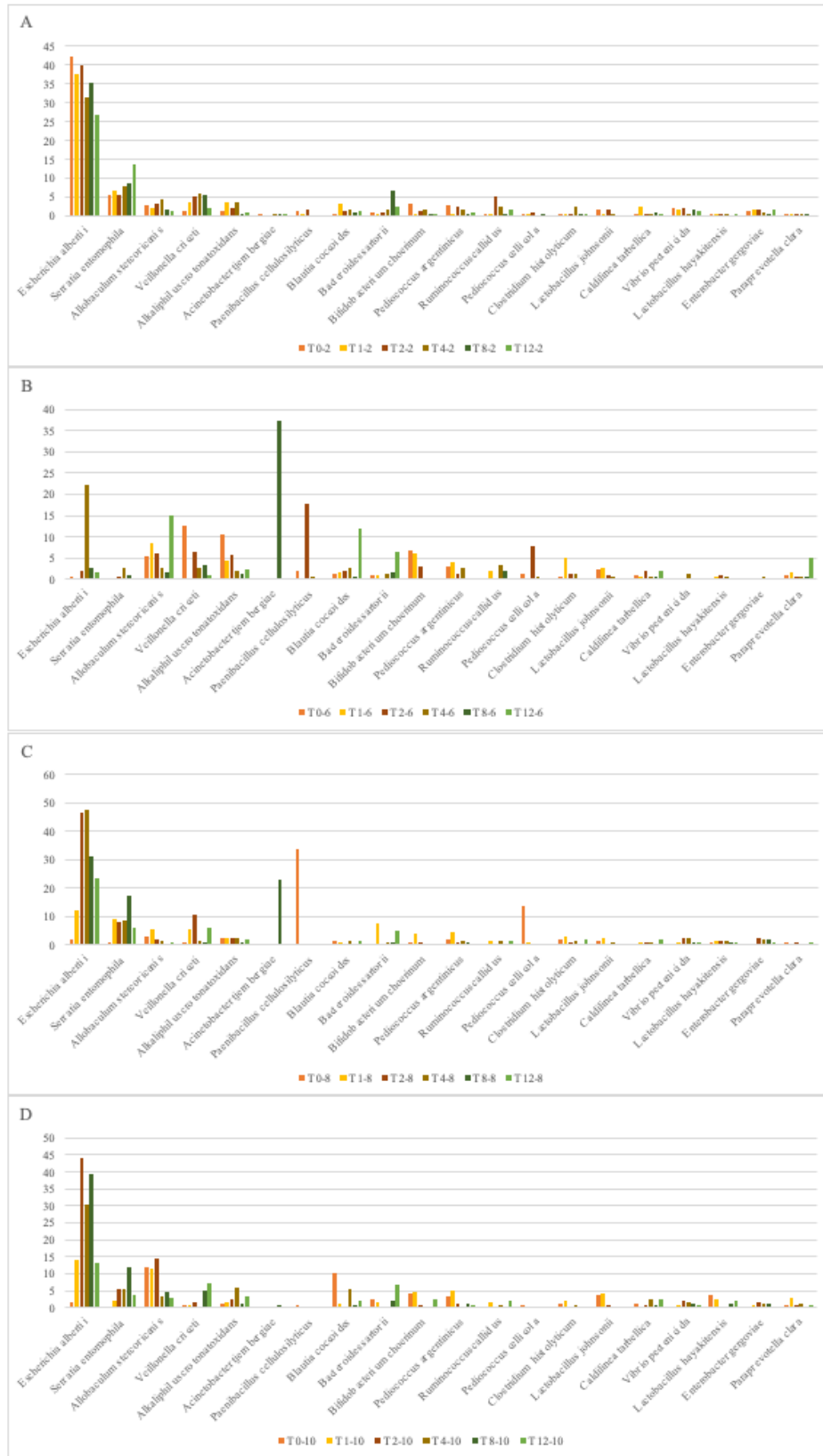
grubunda da dalgalı bir seyir izleyen *Veillonella criceti* oranı (T0: %0,7; T1: %5,2) ikinci haftada en yüksek değerine ulaştıktan (%10,3) sonra deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık sekizde biri olarak izlenmiştir (T4: %10,3; T8: %0,7; T12: %5,7). MSG+LB grubunda *Veillonella criceti* oranı ilk hafta çok belirgin değişiklik göstermezken (T0: %0,6; T1: %0,7) sonrasında dalgalı bir seyir takip etmiş (T2: %1,8; T4: %0,4; T8: %5,0) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık on iki katı olarak izlenmiştir (%7,3) (Şekil 3.14).

Alkaliphilus crotonatoxidans oranı kontrol grubunda birbirini izleyen zaman noktalarında dalgalı bir seyir izlemiştir (T0: %1,1; T1: %3,5; T2: %2,2; T4: %3,4; T8: 0,4). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değer ulaşmıştır (%0,7). MSG grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Alkaliphilus crotonatoxidans* oranı (%10,7) ilk hafta yarı değerinin altına düştükten (%4,5) sonra ikinci haftada tekrar bir miktar yükselmekle (%5,9) birlikte sonrasında azalma göstermiş (T4: %2,1; T8: %1,4) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun dörtte birinin altında izlenmiştir (%2,5). LB grubunda *Alkaliphilus crotonatoxidans* oranı deney boyunca çok belirgin bir değişim göstermemiş (T0: %2,3; T1: %2,2; T2: %2,5; T4: %2,4; T8: %0,9) ve deney sonunda da başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde tespit edilmiştir (%1,7). MSG+LB grubunda dördüncü haftaya kadar düşük düzeyde bir artış eğilimi gözlemlenmiş, sekizinci hafta düşüş gösteren oran (%1,0) deney sonunda tekrar artarak başlangıçtaki nispi çokluğun üç katını aşmıştır (%3,4) (Şekil 3.14).

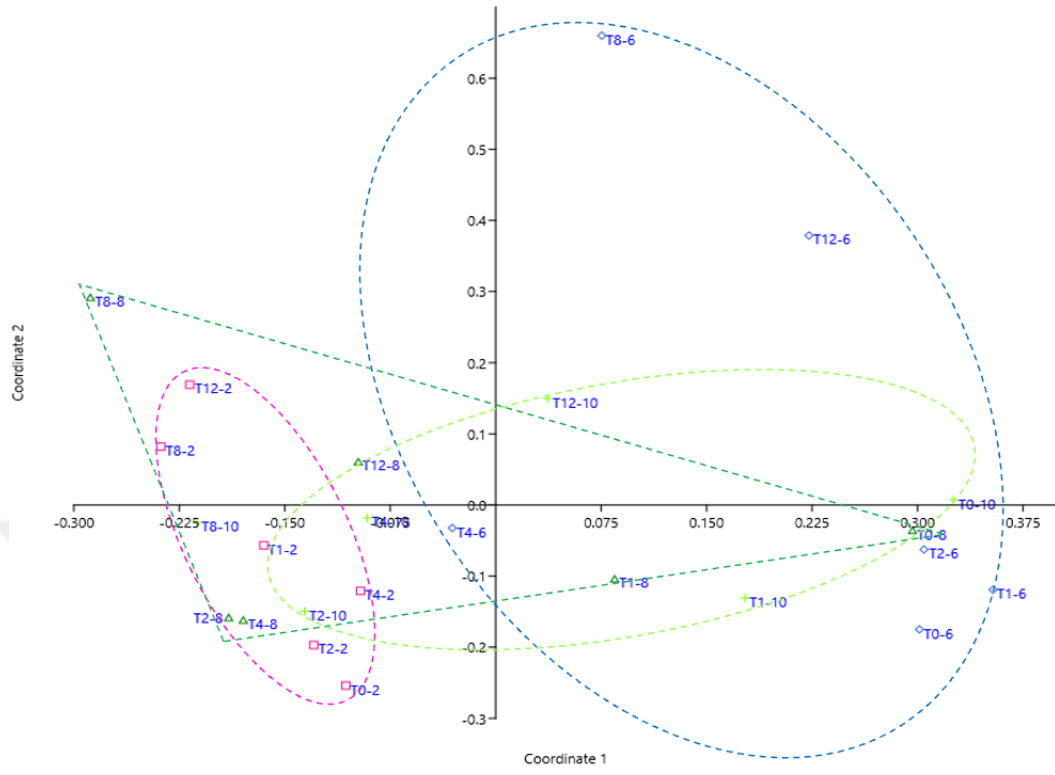
Genel olarak tüm gruplarda deney boyunca düşük seviyelerde seyreden *Acinetobacter tjernbergiae* oranı sekizinci haftada MSG ve LB gruplarında belirgin bir yükseliş göstermekle birlikte (sırasıyla %37,2 ve %22,9) bu gruplar için deney sonundaki örneklerde varlığı tespit edilememiştir. Kontrol ve MSG+LB grubunda ise düşük bir düzeyde ve aynı değerde tespit edilmiştir (%0,2). Benzer şekilde genel olarak düşük seviyelerde izlenen *Paenibacillus cellulosilyticus* oranı MSG grubunda ikinci haftada, LB grubunda başlangıç noktasında nispeten yüksek değerlerde (sırasıyla %17,8) tespit edilmiş olmakla birlikte deney sonunda hiçbir grupta varlığı tespit edilememiştir. MSG grubunda başlangıç noktasında diğer gruplara kıyasla daha yüksek bir değere sahip olan *Blautia coccoides* oranı tüm gruplarda dalgalı bir seyir izlemiştir. Deney sonunda kontrol ve LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değer görülürken (sırasıyla %1,5 ve %1,3), MSG grubunda grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun üstünde (%12,1), MSG+LB grubunda ise altında bir değer izlenmiştir (%1,8).

Bacteroides sartorii oranı tüm gruplarda dalgalı bir seyir izledikten sonra başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde olarak tespit edilmiştir (sırasıyla %2,4, %6,6, %4,8, %6,6) (Şekil 3.14).

Deney grupları örneklerinin tür dağılımının incelendiği PCoA grafiğine göre kontrol grubunun diğer gruplara kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği; müdahale grupları kendi arasında değerlendirildiğinde ise LB ve MSG+LB gruplarının MSG grubuna kıyasla daha kümeli bir dağılımı olduğu görülmektedir (Şekil 3.15). Dolayısıyla müdahale gruplarında kontrol grubuna kıyasla deney boyunca tür seviyesinde belirgin değişimlerin gerçekleştiği, bu değişimin MSG grubunda daha belirgin olduğu anlaşılmaktadır. PCoA grafiği üzerinde Grupların T0 ve T12 zaman noktaları arasındaki uzaklık incelendiğinde MSG grubunda bu uzaklığın diğer gruplara kıyasla daha fazla olduğu; kontrol, LB ve MSG+LB gruplarında ise bu uzaklığın birbirine benzer olduğu görülmektedir. Buna göre deney sonunda gerçekleşen değişimin MSG grubunda daha belirgin olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.14. Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 20 tür A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.15. Tüm gruplarda yer alan erkek sıçanların tür Temel Koordinat Analizi (PCoA)

3.3.2. Dişi Sıçanların Dışkı Mikrobiyotasında Meydana Gelen Değişimler

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın filumların sırasıyla *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* olduğu ve bunları *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia* ve *Spirochaetes* filumlarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.16). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde filum dağılımının %43,0 *Firmicutes*, %29,0 *Proteobacteria*, %18,9 *Bacteroidetes*, %7,2 *Actinobacteria* ve %1,9 diğer filumlar şeklinde olduğu tespit edilmiştir. MSG grubunda bu dağılım %46,4 *Firmicutes*, %28,0 *Proteobacteria*, %15,2 *Bacteroidetes*, %7,9 *Actinobacteria* ve %2,5 diğer filumlar olarak görülmüştür. LB grubunda %63,9 *Proteobacteria*, %26,0 *Firmicutes*, %5,1 *Bacteroidetes*, %1,4 *Actinobacteria* ve %3,6 diğer filumlar olarak izlenmiştir. MSG+LB grubu başlangıç noktası dağılımı ise %44,9 *Firmicutes*, %33,5 *Proteobacteria*, %11,4 *Actinobacteria* %8,5 *Bacteroidetes* ve %1,7 diğer filumlar olarak gözlenmiştir.

Başlangıç zamanında kontrol grubunda en baskın ikinci filum olan *Proteobacteria* oranı (%29,1) ilk hafta çok belirgin değişim göstermezken (%28,0) ikinci hafta itibariyle sekizinci haftaya kadar bir artış eğilimi izlemiştir (T2: %46,2; T4: %60,9; T8: %81,7). Deney sonunda ise tekrar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun iki katını bir miktar aşmıştır (%66,0). Kontrol grubu ile benzer bir başlangıç zamanı değerine sahip olan MSG grubu *Proteobacteria* oranı (%28,0) ilk hafta belirgin değişim göstermezken (%28,3) ilerleyen zamanlarda dalgalı bir seyir izlemiş (T2: %27,4; T4: %43,5; T8: %34,4) deney sonunda artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tamamlamıştır (%39,2). LB grubunda diğer gruplara kıyasla yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Proteobacteria* oranı (%63,9) deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiş, ikinci haftada en düşük değerine (T1: %66,0; T2: %35,0) ulaştıktan sonra deney sonunda tekrar yükselerek (T4: %62,8; T8: %71,6) başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde izlenmişti (%62,2). MSG+LB grubunda başlangıç değeri kontrol ve MSG gruplarına benzer olan *Proteobacteria* oranı ilk ve ikinci haftada artış gösterdikten sonra dördüncü hafta %40,6 seviyesine düşmüş sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar artış göstererek (T8: %56,1; T12: %63,5) başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık iki katına yaklaşmıştır (%63,5) (Şekil 3.16).

Kontrol grubunda ilk hafta artış gösteren *Firmicutes* oranı (T0: %43,0; T1: %55,8) ikinci hafta itibariyle azalma eğilimine girmiş (T2: %37,3; T4: %29,7; T8: %12,2) deney sonunda ise artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yarısının altında kalmıştır

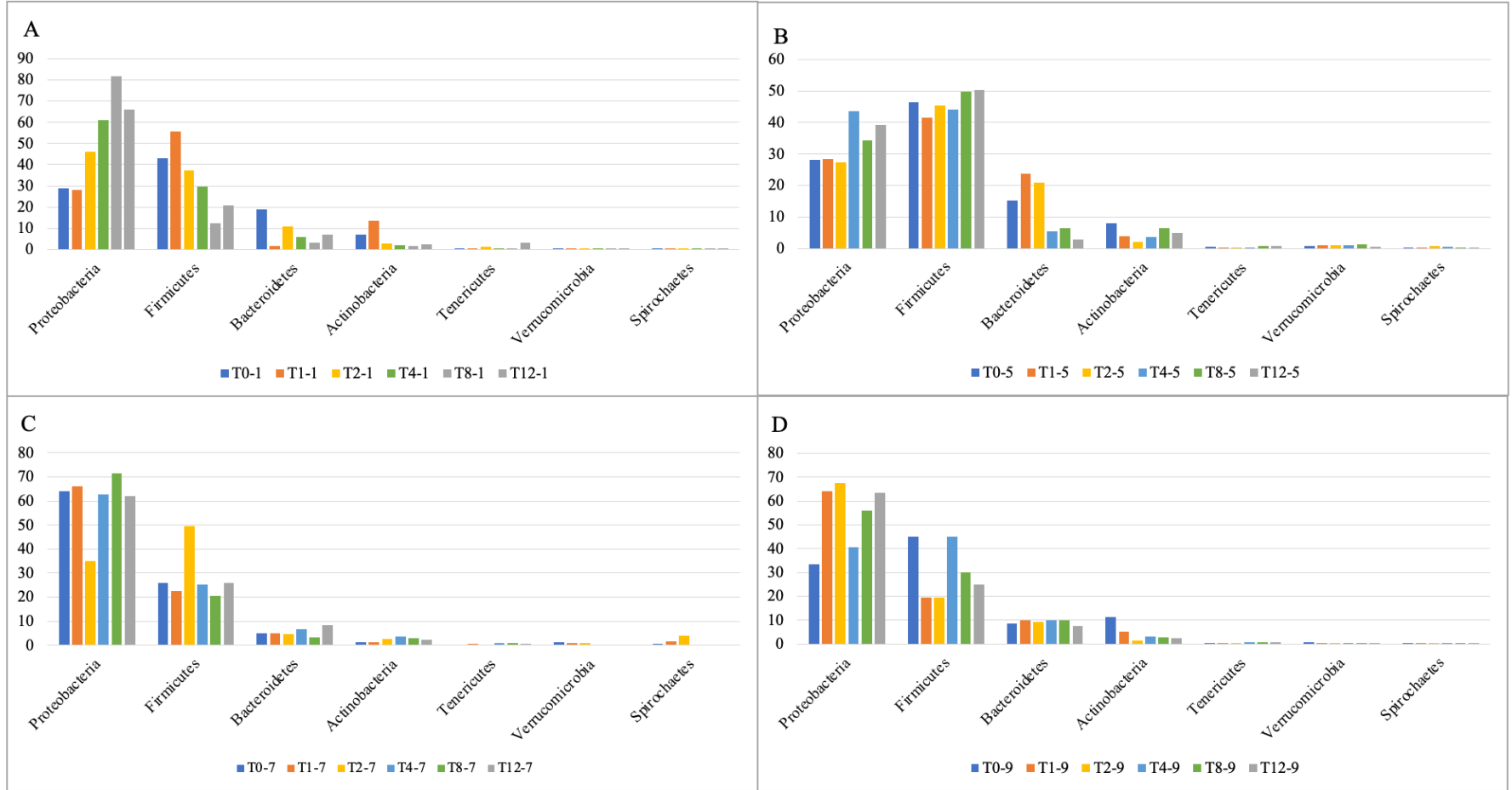
(%20,9). MSG grubunda kontrol grubu ile benzer bir başlangıç değerine sahip olan *Firmicutes* oranı (%46,4) kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiş (T1: %41,5; T2: %45,5; T4: 44,1; T8: %49,7), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%50,4). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük bir başlangıç değerine sahip olan *Firmicutes* oranı (%26,0) dalgalı bir seyir izlemiş, ikinci haftada en yüksek değerine ulaştıktan sonra (T1: %22,7; T2: %49,7) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde tespit edilmiştir (T4: %25,0; T8: %20,5; T12: %25,9). Başlangıç zamanı oranı kontrol ve MSG grupları ile benzer olan MSG+LB grubu *Firmicutes* oranı (%44,9) da deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta yarı değerinin altına düşerken (%19,7), ikinci hafta belirgin bir değişim gözlenmemiştir (%19,6). Dördüncü haftada artış göstererek başlangıç zamanı değerini (%45,0) yakaladıktan sonra sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar azalmış, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yarı değerinin bir miktar üzerinde izlenmiştir (T8: %30,0; T12: %24,9) (Şekil 3.16).

Kontrol grubunda ilk hafta belirgin şekilde azalan *Bacteroidetes* oranı (T0: %18,9; T1: %1,8), ikinci haftada artış gösterdikten (%10,9) sonra dört ve sekizinci haftalarda tekrar azalmıştır (T4: %5,9; T8: %3,2). Deney sonunda bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yarı değerinin altında kalmıştır (%7,0). MSG grubunda *Bacteroidetes* oranı ilk hafta bir artış gösterdikten (T0: %15,2; T1: %23,7) sonra genel olarak azalma eğilimi göstermiş (T2: %21,0; T4: %5,5; T8: %6,5) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğunun beşte birinin altında kaldığı görülmüştür (%2,9). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük bir başlangıç değerine sahip olan *Bacteroidetes* oranı (%5,1) ikinci haftaya kadar azalma eğilimi göstermiş (T1: %4,8; T2: %4,5), dördüncü hafta bir miktar artarken (%6,6), sekizinci haftada tekrar azalmıştır (%3,3). Son hafta artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%8,3). MSG+LB grubunda MSG grubuna benzer şekilde ilk hafta bir miktar artış gösteren *Bacteroidetes* oranı (T0: %8,1; T1: %9,9) sonraki haftalarda belirgin bir değişim göstermemiş (T2: %9,4; T4: %10,0; T8: %9,9), deney sonunda bir miktar azalma ile başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde izlenmiştir (%7,6) (Şekil 3.16).

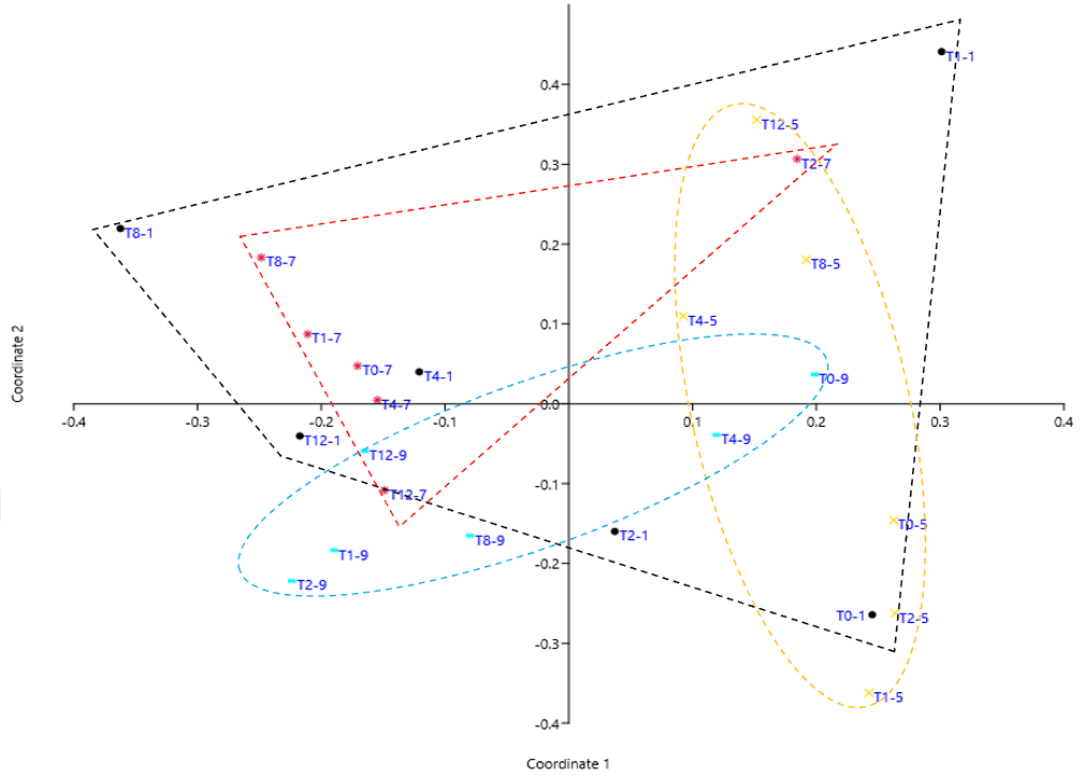
Kontrol grubunda ilk hafta iki katına yaklaşacak şekilde artış göstermiş olan *Actinobacteria* oranı (T0: %7,2; T1: %13,4), ikinci hafta azaldıktan (%2,7) sonra deney sonuna kadar belirgin bir değişim göstermemiştir (T4: %2,1; T8: %1,7; T12: %2,6). MSG grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Actinobacteria* oranı (T0: %7,9; T1: %3,8; T2: %2,2; T4: %3,7; T8: %6,5) deney sonunda azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun yarısı

oranına yaklaşmıştır (%4,8). LB grubunda diğerk gruplara kıyasla daha düşük bir başlangıç seviyesine sahip olan *Actinobacteria* oranı (%1,2) ilk hafta bir miktar artış göstermekle birlikte ikinci haftada azalmış (T1: %4,6; T2: %1,1) ve deneyin geri kalanında belirgin bir değişiklik göstermemiştir (T4: %1,6; T8: %1,4; T12: %1,7). MSG+LB grubunda *Actinobacteria* oranı ilk hafta yarı miktarının altına dūřmūř (T0: %11,4; %5,2), ikinci haftada azalma eğilimi devam etmiştir (%1,6). Dördüncü hafta bir miktar artmış (%3,2) olmakla birlikte sekiz ve on ikinci haftalarda azalarak deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun dörtte birinin altında kalmıştır (T8: %2,7; T12: %2,5) (şekil 3.16).

Filum seviyesi PCoA grafiğine göre müdahale gruplarının kontrol grubuna kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmüştür. Müdahale gruplarının dağılımının ise birbirine yakın olduğu gözlenmiştir (şekil 3.17). Bu doğrultuda, kontrol grubunun mikrobiyal kompozisyonunda müdahale gruplarına kıyasla daha radikal değişimler olduğu anlaşılmaktadır. Ek olarak kontrol grubu, MSG ve MSG+LB gruplarına ait T0 ve T12 örneklere arasındaki uzaklığın birbirine yakın olduğu, dolayısıyla deney sonunda bu gruplarda filum düzeyinde belirgin bir yapısal değişiklik olduğu anlaşılmaktadır. LB grubunda bu uzaklık diğerk gruplara kıyasla daha az olarak izlenmiştir.



Şekil 3.16. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 7 filum A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.17. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların filum Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın sınıfların sırasıyla *Gammaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia* olduğu ve bunları *Actinobacteria*, *Erysipelotrichi*, *Sphingobacteriia* filumlarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.18). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde sınıf dağılımının %31,4 *Bacilli*, %19,5 *Bacteroidia*, %15,8 *Clostridia*, %9,5 *Erysipelotrichi*, %9,4 *Actinobacteria*, %3,0 *Gammaproteobacteria* ve %6,6 diğer sınıflar şeklinde olduğu tespit edilmiştir. MSG grubunda bu dağılım %28,4 *Clostridia*, %25,2 *Bacilli*, %13,2 *Bacteroidia*, %10,2 *Actinobacteria*, %6,7 *Erysipelotrichi*, %5,7 *Sphingobacteriia*, %4,2 *Gammaproteobacteria* ve %6,5 diğer sınıflar olarak görülmüştür. LB grubunda sınıf dağılımı %46,4 *Gammaproteobacteria*, %27,5 *Clostridia*, %7,2 *Bacilli*, %4,5 *Bacteroidia*, %2,2 *Sphingobacteriia*, %1,8 *Opitutae*, %1,7 *Erysipelotrichi* ve %8,6 diğer sınıflar şeklinde izlenmiştir. MSG+LB grubunda ise %44,7 *Bacilli*, %15,8 *Actinobacteria*, %15,3 *Clostridia*, %7,6 *Bacteroidia*, %5,6 *Gammaproteobacteria*, %3,7 *Sphingobacteriia*, %2,7 *Erysipelotrichi* ve %4,6 diğer sınıflar olduğu görülmüştür (Şekil 3.18).

Dişi sıçanların dışkı örneklerin en yaygın görülen sınıf olan *Gammaproteobacteria* kontrol grubunda düşük bir seviyede başlamış (%3,0) sekizinci haftaya kadar bir artış eğilimi göstermiş (T1: %6,0; T2: %26,0; T4: %47,2; T8: %68,0), deney sonunda ise bir miktar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun on beş katının üzerinde izlenmiştir (%46,9). MSG grubunda da düşük bir başlangıç seviyesine sahip olan *Gammaproteobacteria* oranı (%4,2) deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiş (T1: %3,7; T2: %2,6; T4: %25,4; T8: %11,8), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun dört katını aştığı tespit edilmiştir (%18,7). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Gammaproteobacteria* oranı (%46,4), ilk hafta çok belirgin bir değişim göstermemekle (%48,9) birlikte ikinci hafta önemli ölçüde azalmıştır (%13,7). Dört ve sekizinci haftalarda tekrar artış gösterdikten (T4: %50,6; T8: %53,0) sonra deney sonunda azalarak, başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında kalmıştır (%41,7). MSG+LB grubunda *Gammaproteobacteria* oranı başlangıç seviyesi kontrol ve MSG grubu ile benzer olup (%5,6) ilk ve ikinci haftada belirgin şekilde artmıştır (T1: %46,0; T2: %53,9). Dördüncü haftada azalma gösteren oran (%24,2) sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar artarak deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yedi katının üzerinde izlenmiştir (T8: %31,0; T12: %42,0) (Şekil 3.18).

En sık görülen ikinci sınıf olan *Clostridia* oranı kontrol grubunda ilk iki hafta artış gösterdikten (T0: %15,8; T1: %18,6; T2: %40,3) sonra dört ve sekizinci haftalarda azalmıştır

(T4: %22,3; T8: %11,5). Deney sonunda ise tekrar bir artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerine sonlanmıştır (%20,7). MSG grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Clostridia* oranı (%28,4) deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiş, ikinci haftada en yüksek değerine ulaşmış (T1: %23,7; T2: %39,0; T4: 31,4; T8: %32,1), deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde izlenmiştir (%31,2). LB grubunda dalgalı bir seyir izleyen *Clostridia* oranı (T0: %27,5; T1: %19,4; T2: %55,2; T4: %16,7; T8: %18,1) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluk değerinde saptanmıştır (%27,6). MSG+LB grubunda ilk iki hafta çok belirgin bir değişim göstermeyen *Clostridia* oranı, dördüncü haftada bir artış gösterdikten (%43,3) sonra azalmış olup, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katına yakın bir değerde izlenmiştir (T8: %36,2; T12: %28,5) (Şekil 3.18).

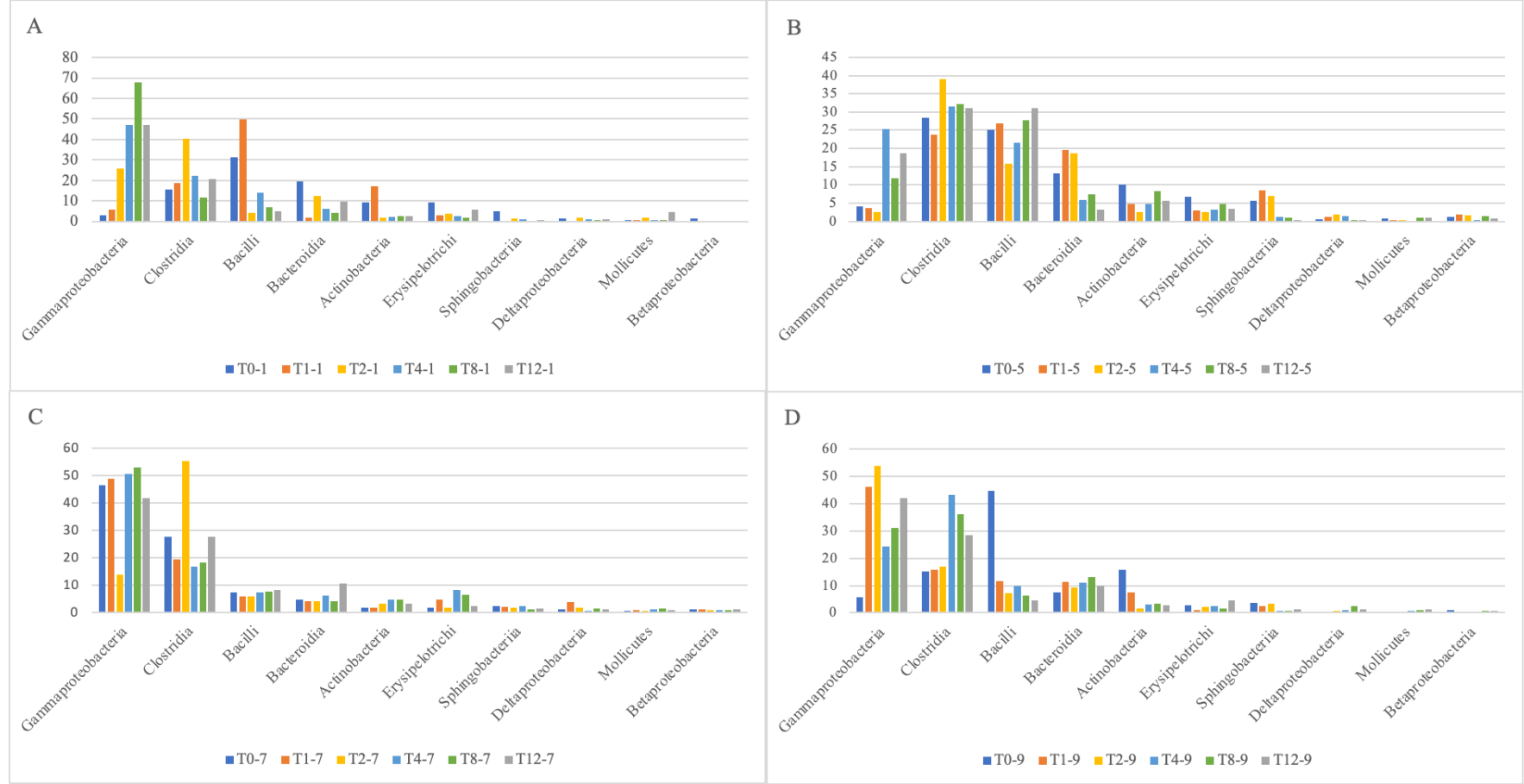
Kontrol grubu *Bacilli* oranı ilk hafta artış gösterdikten (T0: %31,4; T1: 49,9) sonra ikinci haftada belirgin şekilde azalmıştır (%5,1). Deneyin kalanında dalgalı bir seyir izlemiş olup (T4: %13,9; T8: %6,9) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık altıda biri olarak izlenmiştir (%5,1). MSG grubunda *Bacilli* oranı ilk haftada belirgin bir değişim göstermemiş olup (T0: %25,2; T1: %26,9) ikinci haftada azalma gösterdikten (%15,8) sonra bir artış eğilimi göstermiştir (T4: %21,6; T8: %27,9) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%31,1). LB grubunda *Bacilli* oranı genel olarak çok büyük bir değişim göstermemiş olup (T0: %7,2; T1: %5,8; T2: %5,9; T4: %7,1; T8: %7,4) deney sonunda da başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde izlenmiştir (T12: %8,1). MSG+LB grubunda *Bacilli* oranı başlangıç değeri diğer tüm gruplardan yüksek olup (%44,7) ilk hafta belirgin şekilde azalmıştır (%11,7). Oran ikinci haftada da azaldıktan (%7,2) sonra dördüncü haftada bir miktar artış göstermiştir (%9,8). Sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar azalan oran deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık onda biri olarak izlenmiştir (T8: %6,5; T12: %4,5) (Şekil 3.18).

Kontrol grubunda *Bacteroidia* oranı ilk hafta belirgin bir şekilde azaldıktan (T0: %19,5; T1: %1,8) sonra ikinci haftada artış göstermiştir (T2: %12,4). Dört ve sekizinci haftada tekrar azalan oran (T4: %6,3; T8: %4,2) deney sonunda artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısı olarak tespit edilmiştir (%12,4). MSG grubunda ilk hafta artış gösteren *Bacteroidia* oranı (T0: %13,2; T1: %19,7) iki ve dördüncü haftalarda azalmıştır (T2: 18,7; T4: %5,8). Sekizinci haftada tekrar bir miktar artan oran (%7,4) deney sonunda azalma göstermiş ve başlangıçtaki nispi çokluğun çokluğun yaklaşık dörtte biri olarak tespit edilmiştir (%3,2). LB grubunda *Bacteroidia* oranı deney süresince belirgin bir değişiklik

göstermemişken (T0: %4,5; T1: %4,1; T2: %3,9; T4: %6,0; T8: %3,9) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katını aşmıştır (%10,4). MSG+LB grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Bacteroidia* oranı (T0: %7,6; T1: %11,4; T2: %9,2; T4: 11,1; T8: %13,2) deney sonunda bir miktar artmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğua yakın olarak izlenmiştir (%9,9) (Şekil 3.18).

Kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında deney süresince dalgalı bir seyir izleyen *Actinobacteria* oranı deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalırken (sırasıyla %2,8, %5,8; %2,7), LB grubunda bir miktar üzerinde görülmüş (%3,0) ve tüm grupların deney sonu değerleri birbirine yakın olarak izlenmiştir. *Erysipelotrichi* oranı kontrol ve MSG grubunda deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalırken (sırasıyla %5,7 ve %3,5), LB ve MSG+LB gruplarında başlangıç değerinin bir miktar üzerinde izlenmiştir (sırasıyla %2,2 ve %4,5). Tüm gruplarda deney sonundaki *Sphingobacteriia* oranı başlangıç düzeyinin altında olarak tespit edilmiştir (Kontrol: %0,7; MSG: %0,4; LB: %1,3; MSG+LB: %1,3) (Şekil 3.18).

PCoA grafiğine göre MSG ve LB gruplarının, kontrol ve MSG+LB gruplarına kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.19). Kontrol ve MSG+LB gruplarının dağılımı ise birbirine benzerdir. Buna göre kontrol ve MSG+LB gruplarında deney boyunca diğer gruplara kıyasla daha radikal değişimler olduğu anlaşılmaktadır. Grupların T0 ve T12 örnekleri arasındaki uzaklıklar değerlendirildiğinde ise yine benzer şekilde kontrol ve MSG+LB gruplarında mesafenin diğer gruplara kıyasla fazla olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu gruplarda deney sonunda sınıf seviyesinde belirgin bir yapısal değişiklik olduğu anlaşılmaktadır .



Şekil 3.18. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 sınıf A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın takımların sırasıyla *Enterobacteriales*, *Clostridiales*, *Lactobacillales*, *Bacteroidales* olduğu ve bunları *Erysipelotrichales*, *Bacillales*, *Bifidobacteriales* ve *Sphingobacteriales* takımlarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.20). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde takım dağılımının %19,8 *Lactobacillales*, %19,7 *Bacteroidales*, %14,9 *Clostridiales*, %10,9 *Bacillales*, %9,6 *Erysipelotrichales*, %7,5 *Bifidobacteriales*, %4,9 *Sphingobacteriales*, %2,0 *Actinomycetales* ve %10,7 diğer takımlar şeklinde olduğu görülmüştür. MSG grubunda bu dağılım %27,0 *Clostridiales*, %21,0 *Lactobacillales*, %13,3 *Bacteroidales*, %7,7 *Bifidobacteriales*, %6,8 *Erysipelotrichales*, %5,7 *Sphingobacteriales*, %3,2 *Bacillales*, %2,5 *Actinomycetales* ve %12,7 diğer takımlar olarak izlenmiştir. LB grubunda %44,2 *Enterobacteriales*, %26,0 *Clostridiales*, %4,7 *Bacteroidales*, %3,7 *Lactobacillales*, %2,7 *Bacillales*, %2,3 *Sphingobacteriales*, %1,8 *Pelagicoccales*, %1,8 *Erysipelotrichales*, %1,4 *Actinomycetales* ve %11,4 diğer takımlar şeklinde bir dağılım görülmüştür. MSG+LB grubunda ise başlangıç zamanı takım dağılımı % 33,1 *Lactobacillales*, %14,6 *Clostridiales*, %14,1 *Bifidobacteriales*, %9,4 *Bacillales*, %7,8 *Bacteroidales*, %3,8 *Sphingobacteriales*, %3,5 *Enterobacteriales*, %2,8 *Erysipelotrichales* ve %10,8 diğer takımlar olarak tespit edilmiştir.

Tüm gruplar ve zamanlar için en yaygın takım olarak tespit edilen *Enterobacteriales* oranı kontrol grubunda sekizinci haftaya kadar bir artış trendi izlemiş (T0: %1,4; T1: %2,0; T2: %24,6; T4: %45,4; T8: %64,8), deney sonunda ise bir miktar azalmasına rağmen başlangıçtaki nispi çokluğun otuz iki katının üstünde olarak izlenmiştir (%44,5). MSG grubunda kontrol grubuna benzer bir başlangıç seviyesine sahip olan *Enterobacteriales* oranı (%1,2) dalgalı bir seyir izlemiş dördüncü haftada en yüksek değerine ulaştıktan sonra azalmakla birlikte (T1: %1,1; T2: %1,6; T4: 19,0; T8: %6,4), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dört katı olarak tespit edilmiştir (%4,9). LB grubunda diğer gruplara kıyasla yüksek bir başlangıç oranı sahip olan *Enterobacteriales* oranı ilk hafta bir miktar artış göstermiş (T0: %44,2; T1: %47,0) ikinci hafta bunu bir azalma takip etmiştir (%9,6). Dördüncü hafta tekrar artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğa yaklaşan oran (%48,3) sekizinci hafta çok büyük bir değişiklik göstermemiştir (%49,2). Deney sonunda tekrar azalan oran başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar altında kalmıştır (%38,8). MSG+LB grubunda ilk hafta belirgin şekilde artan *Enterobacteriales* oranı (%43,7), ikinci hafta da artışa devam etmiştir (%50,7). Dördüncü hafta yarı miktarının altına düşecek şekilde azalan oran (%22,7), sekizinci hafta bir miktar artmıştır (%24,9). Deney sonunda ise tekrar artış göstermiş ve başlangıçtaki nispi çokluğun on bir katının üzerinde izlenmiştir (%40,1) (Şekil 3.20).

Kontrol grubunda ilk ve ikinci haftada artış gösteren *Clostridiales* oranı (T0: %14,9; T1: %18,3; T2: %37,0) dördüncü ve sekizinci haftalarda azalma eğilimine girmişti (T4: %20,5; T8: %10,8). Deney sonunda ise tekrar artış göstermiş, başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%19,4). MSG grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Clostridiales* oranı (T0: %27,0; T1: 2,0; T2: %38,2; T4: %29,9; T8: %31,0) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tespit edilmiştir (%29,7). LB grubunda da benzer şekilde deney boyunca dalgalı bir seyir izlenmiş olup (T0: %26,0; T1: %17,5; T2: %54,9; T4: 16,0; T8: %17,3) deney sonunda *Clostridiales* oranı başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde saptanmıştır (%27,1). MSG+LB grubunda da *Clostridiales* oranı dördüncü haftaya kadar bir artış eğilimi izlemiştir (T0: %14,6; T1: %15,4; T2: %16,4; T4: %41,3). Sekizinci hafta itibarıyla azalma eğilimine giren oran (%35,7) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katına yakın olarak tespit edilmiştir (%27,2) (Şekil 3.20).

Kontrol grubunda deney boyunca dalgalı bir seyir izleyen *Lactobacillales* oranı ilk hafta iki katını aşacak şekilde arttıktan (%44,6) sonra ikinci haftada belirgin bir düşüş göstermiştir (%3,4). Dördüncü haftadaki kısmi yükselmeyi (%13,2) sekizinci haftada tekrar bir azalma takip etmiştir (%4,4). Deney sonunda ise çok büyük bir değişiklik göstermeyerek başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık beşte biri olarak izlenmiştir (%4,1). MSG grubunda *Lactobacillales* oranı ilk iki hafta azalma göstermiştir (T0: %21,0; T1: %13,4; T2: %9,4). Dördüncü hafta bir miktar artış gösterdikten (%14,8) sonra sekizinci hafta tekrar azalmıştır (%11,1). Deney sonunda ise tekrar bir miktar artarak başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değere ulaşmıştır (%18,8). LB grubunda *Lactobacillales* oranı kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir (T0: %3,7; T1: %3,1; T2: 4,7; T4: %5,9; T8: %5,6). Deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde olarak tamamlanmıştır (%6,7). LB grubunda ilk iki hafta azalma gösteren *Lactobacillales* oranı (T0: %33,1; T1: %11,2; T2: %5,9) dördüncü hafta bir miktar arttıktan (%7,6) sonra tekrar azalma trendine girmiştir (T8: %5,5). Deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun oldukça altında bir miktarda izlenmiştir (%2,4) (Şekil 3.20).

En sık tespit edilen takımlardan bir diğeri olan *Bacteroidales* oranı kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta belirgin bir şekilde azalan oran (T0: %19,7; T1: %1,8) ikinci hafta artış göstermiş (%12,6), dördüncü ve sekizinci haftalarda ise tekrar azalmıştır (T4: %6,4; T8: %4,4). Deney sonunda bir miktar artmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarı değerinin altında kalmıştır (%9,9). MSG grubunda *Bacteroidales* oranı yine dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar arttıktan (T0: %13,3; T1: %20,0) sonra ikinci

hafta belirgin bir değişim göstermemiştir (%19,2). Dördüncü hafta tekrar azalan olan (%6,0), sekizinci hafta bir miktar artmıştır (%7,6). Deney sonunda oran tekrar azalmış ve başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dörtte biri olarak tespit edilmiştir (%3,3). LB grubunda deney sonuna kadar kısıtlı bir aralıkta değişimleri izlenen *Bacteroidales* oranı (T0: %4,7; T1: %4,2; T2: %4,1; T4: %6,1; T8: %4,0 deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katını bir miktar aşmıştır (%10,8). MSG+LB grubunda da *Bacteroidales* oranı dalgalı bir seyir takip etmiştir. İlk hafta bir miktar arttıktan sonra (T0: %7,8; T1: %11,5) ikinci hafta azalmış (%9,3) , dördüncü hafta tekrar artarak ilk hafta seviyesini yakalamıştır (%11,3). Sekizinci hafta bir miktar daha artış gösterdikten sonra (%13,5) deney sonunda azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tespit edilmiştir (%10,1) (Şekil 3.20).

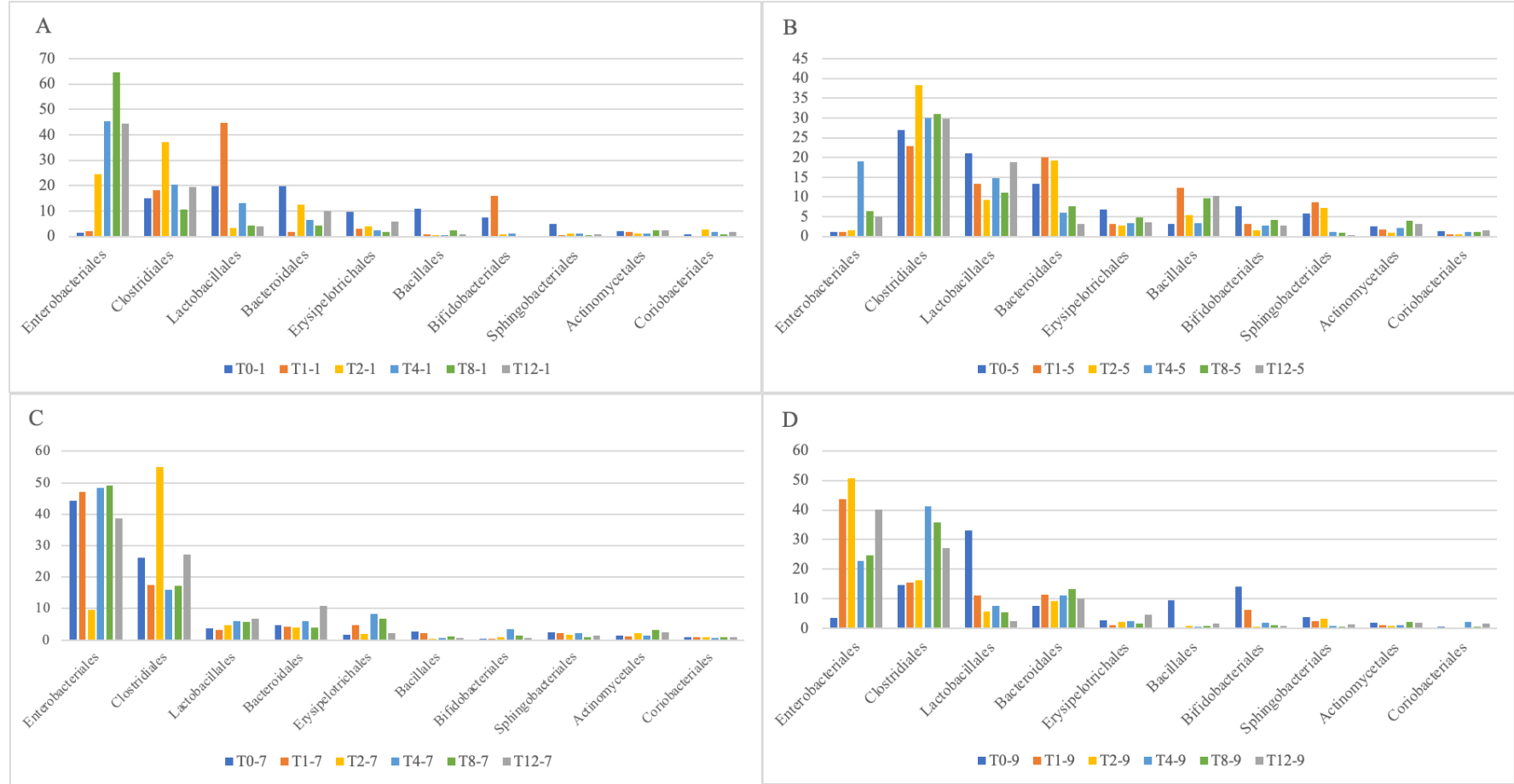
Erysipelotrichales oranı kontrol grubunda ilk hafta azaldıktan sonra (T0: %9,6; T1: %2,9) sekizinci haftaya kadar çok belirgin bir değişim göstermemiştir (T2: %3,9; T4: %2,6; T8: %1,9). Deney sonunda ise bir miktar artmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%5,9). MSG grubunda da benzer şekilde ilk hafta azalan oran (T0: %6,8; T1: %3,1) deneyin sonuna kadara belirgin bir değişiklik göstermemiş (T2: %2,7; T4: %3,4; T8: %4,8) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%3,6). LB grubunda *Erysipelotrichales* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (T0: %1,8 T1: %4,8) ikinci hafta azalarak başlangıç seviyesine gerilemiştir (%1,8). Sekiz hafta itibarıyla azalma göstermiş (%8,2), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde tespit edilmiştir (%2,3). MSG+LB grubunda *Erysipelotrichales* oranı ilk hafta bir miktar azaldıktan sonra (T0: %2,8; T1: %1,2) sekizinci haftaya kadar çok belirgin bir değişim göstermemiştir (T2: %2,2; T4: %2,6; T8: %1,6). Deney sonunda ise bir miktar artarak başlangıçtaki nispi çokluğun üstünde tamamlamıştır (%4,6) (Şekil 3.20).

Bir diğer sık rastlanan takım olan *Bacillales* oranı kontrol grubunda ilk hafta azaldıktan sonra (T0: %10,9; T1: %0,9) belirgin bir değişiklik göstermemiştir (T2: %0,5; T4: 0,5). Sekizinci hafta bir miktar artışı takiben (%2,3) deney sonunda tekrar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun onda birinin altında tespit edilmiştir (%0,8). MSG grubunda ise ilk hafta yaklaşık dört katına çıkacak şekilde artış gösteren *Bacillales* oranı (T0: %3,2; T1: 12,3) iki ve dördüncü haftalarda azalmıştır (T2: %5,3; T4: 3,4). Sekiz ve on ikinci haftalarda artış gösteren oran başlangıçtaki nispi çokluğun üç katının üzerinden sonlanmıştır (T8: %9,6; T12: %10,3). LB grubunda düşük bir başlangıç seviyesine sahip olan *Bacillales* oranı (%2,7) ilk ve ikinci haftalarda azalmış (T1: %2,1; T2: %0,5) ve deney sonuna kadar çok belirgin bir değişim göstermeyerek (T4: %0,6; T8: %1,1) başlangıçtaki nispi çokluğun altında tespit

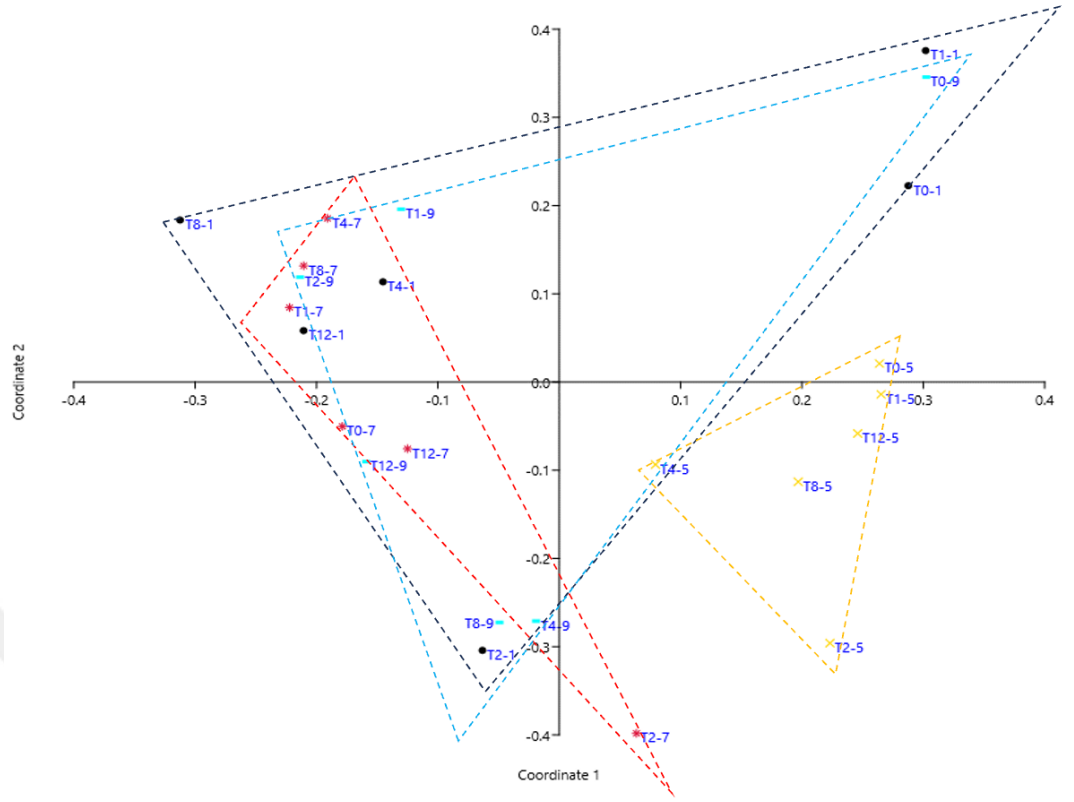
edilmiştir (%0,7) MSG+LB grubunda kontrol grubuna benzer şekilde ilk hafta azalan *Bacillales* oranı (T0: %9,4; T1: %0,2) sonrasında belirgin bir değişiklik göstermemiştir (T2: %0,9; T4: %0,5; T8: %0,8). Deney sonunda bir miktar artmış olsa da başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%1,7) (Şekil 3.20).

Yaygın görülen diğer takımlar arasında yer alan *Bifidobacteriales* oranı kontrol, MSG ve MSG+ LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun altında olacak şekilde sonlanmıştır (sırasıyla %0,3, %2,8 ve %0,8). LB grubunda düşük bir başlangıç seviyesine sahip olan oran (%0,4) deney sonunda da büyük değişiklik göstermemiştir (%0,7). Bir diğer yaygın takım olan *Sphingobacteriales* oranı da deney sonunda tüm gruplar için başlangıç değerinin altında kalmıştır (Kontrol: %0,7; MSG: %0,4; LB: %1,4; MSG+LB: %1,3). Deney sonu *Actinomycetales* oranları ise tüm gruplar için başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde olacak şekilde izlenmiştir (Kontrol: %2,3; MSG: %3,1; LB: %2,4; MSG+LB: %1,9) (Şekil 3.20).

Gruplar için takım seviyesi PCoA grafikleri incelendiğinde MSG ve LB gruplarının, kontrol ve MSG+LB gruplarına kıyasla daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Bu nedenle, dağılımları da birbirine benzer olan, kontrol ve MSG+LB gruplarının deney boyunca diğer gruplara göre daha belirgin değişimler meydana gelmiştir (Şekil 3.21). Benzer şekilde, kontrol ve MSG+LB gruplarının T0 ve T12 noktaları arasındaki mesafenin MSG ve LB gruplarına kıyasla daha fazla olduğu, dolayısıyla deney sonunda görülen yapısal değişikliği daha belirgin olduğu görülmektedir.



Şekil 3.20. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 takım A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.21. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların takım Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın familyaların *Enterobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillaceae*, *Clostridiaceae* olduğu ve bunları *Veillonellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bifidobacteriaceae* familyalarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.22). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde familya dağılımının %17,8 *Lactobacillaceae*, %10,0 *Erysipelotrichaceae*, %10,0 *Staphylococcaceae*, %8,9 *Bacteroidaceae*, %7,8 *Bifidobacteriaceae*, %5,6 *Prevotellaceae*, %5,2 *Lachnospiraceae*, %5,0 *Sphingobacteriaceae*, %4,4 *Clostridiaceae*, %2,3 *Veillonellaceae* ve %23,0 diğer familyalar şeklinde olduğu görülmüştür. MSG grubunda bu dağılım %18,6 *Lactobacillaceae*, %14,4 *Clostridiaceae*, %8,0 *Bifidobacteriaceae*, %7,1 *Erysipelotrichaceae*, %5,9 *Ruminococcaceae*, %5,8 *Sphingobacteriaceae*, %5,4 *Bacteroidaceae*, %5,1 *Lachnospiraceae*, %3,4 *Prevotellaceae*, %2,7 *Staphylococcaceae* ve %23,7 diğer familyalar şeklinde tespit edilmiştir. LB grubunda familya dağılımı %45,0 *Enterobacteriaceae*, %10,2 *Lachnospiraceae*, %7,2 *Clostridiaceae*, %4,7 *Ruminococcaceae*, %3,3 *Veillonellaceae*, %2,9 *Lactobacillaceae*, %2,2 *Sphingobacteriaceae*, %1,9 *Pelagicococcaceae*, %1,8 *Erysipelotrichaceae*, %1,5 *Bacteroidaceae* ve %19,3 diğer familyalar olarak saptanmıştır. MSG+LB grubunda ise %30,8 *Lactobacillaceae*, %14,5 *Bifidobacteriaceae*, %6,5 *Clostridiaceae*, %5,1 *Bacillaceae*, %4,4 *Lachnospiraceae*, %3,9 *Paenibacillaceae*, %3,8 *Sphingobacteriaceae*, %3,6 *Enterobacteriaceae*, %3,5 *Bacteroidaceae*, %2,9 *Erysipelotrichaceae* ve %21,1 diğer familyalar olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.22).

En yaygın gözlemlenen familya olan *Enterobacteriaceae* oranı kontrol grubunda başlangıç zamanında düşük bir seviyeye sahip iken (%1,4) sekizinci haftaya kadar düzenli bir artış (T1: %2,0; T2: %25,1; T4: %45,9) göstererek %65,5 seviyesine ulaşmıştır. Deney sonunda ise bir miktar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun otuz katının üzerinde tamamlamıştır (%45,3). MSG grubunda da benzer şekilde düşük bir başlangıç seviyesine sahip olan *Enterobacteriaceae* oranı (%1,3) dördüncü haftada en yüksek seviyesine ulaşmış (T1: %1,2; T2: %1,7; T4: %19,6), sonrasında azalmakla birlikte deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dört katı olarak izlenmiştir (T8: %6,7; T12: %5,1). LB grubunda diğer gruplara kıyasla yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Enterobacteriaceae* oranı (%45,0) ilk hafta bir miktar arttıktan sonra (%47,9) ikinci haftada belirgin bir şekilde azalmıştır (%9,9). Dördüncü haftada tekrar artan oran (%49,0) sekizinci haftada belirgin bir değişiklik göstermemiştir (%49,8). Deney sonunda ise bir miktar azalarak başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%39,7). MSG+LB grubunda ise kontrol ve LB gruplarına yakın bir başlangıç değerine sahip olan *Enterobacteriaceae* oranı (%3,6) ilk hafta belirgin bir artış göstermiştir

(%44,6). İkinci hafta da artışına devam ettikten sonra (%51,5) dördüncü hafta azalarak %23,3 seviyesine inmiştir. Sekizinci haftada (%25,5) ve deney sonunda tekrar artış gösteren oran başlangıçtaki nispi çokluğun on katının üzerinde tespit edilmiştir (%40,8) (Şekil 3.22).

Kontrol grubu başlangıç değeri %5,2 olan *Lachnospiraceae* oranı dalgalı bir seyir izlemiş (T1: %2,7; T2: %27,9; T4: %11,8; T8: %2,7) ve deney sonunda artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinde tespit edilmiştir (%12,7). MSG grubunda da kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Lachnospiraceae* oranı dördüncü haftada en yüksek değerine ulaştıktan sonra (T0: %5,1; T1: %6,6; T2: %4,8; T4: %8,7) tekrar azalmış (T8: %4,0), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde tespit edilmiştir (%4,9). LB grubunda ise diğer gruplara kıyasla bir miktar daha yüksek başlangıç değerine sahip olan *Lachnospiraceae* oranı (%10,2) deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiş, ikinci hafta en yüksek değerine ulaşmıştır (T1: %5,9; T2: %24,9; T4: 4,1; T8: %4,6). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde izlenmiştir (%7,6). MSG+LB grubunda da *Lachnospiraceae* oranı dalgalı bir seyir izlemiş (T0: %4,4; T1: %7,1; T2: %4,9; T4: %26,9; T8: %22,9). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun dört katına yakın olarak tespit edilmiştir (%16,9) (Şekil 3.22).

En sık tespit edilen familyalar arasında yer alan *Lactobacillaceae* oranı kontrol grubunda başlangıç zamanında %17,8 olarak tespit edilmiştir. İlk hafta iki katını artacak şekilde artış gösteren oran (%39,8) ikinci hafta belirgin şekilde azalmış (%2,6), dördüncü hafta bir miktar artmış olmakla birlikte (%7,0) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun sekizde birinin altında kalmıştır (T8: %1,2; T12: %1,9). MSG grubunda kontrol grubuna benzer bir başlangıç değerine sahip olan *Lactobacillaceae* oranı (%18,6) deney boyunca bir azalma eğilimi göstermiş (T1: %12,6; T2: %8,2; T4: %6,2; T8: %4,7) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun dörtte birinin biraz üzerinde izlenmiştir (%4,9). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük bir başlangıç değerine sahip olan *Lactobacillaceae* oranı (%2,9) deney süresince çok belirgin bir değişim göstermemiş (T1: %2,1; T2: %3,5; T4: %3,6; T8: %4,4) ve deney sonunda da başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde tespit edilmiştir (%2,4). MSG+LB grubu, tüm gruplar arasındaki en yüksek başlangıç zamanı *Lactobacillaceae* oranına sahiptir (%30,8). Oran ilk haftada belirgin şekilde azalmış (%9,4), ikinci haftada bu azalma devam etmiştir (%4,8). Dördüncü haftada bir miktar artış göstermekle birlikte (%6,2) sekizinci hafta itibarıyla tekrar azalma eğilimine girmiş (%3,3) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yirmide biri olarak tespit edilmiştir (%1,5) (Şekil 3.22).

Kontrol grubunda başlangıç zamanında %4,4 olan *Clostridiaceae* oranı ilk hafta bir miktar artış göstermekle birlikte (%10,4), ikinci hafta azalma göstermiş (%4,0) ve sonrasında deney sonuna kadar çok büyük bir değişiklik göstermemiş (T4: %3,5; T8: %2,3) başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değer ile sonlanmıştır (%3,6). MSG grubunda ise ilk iki hafta azalma gösteren *Clostridiaceae* oranı (T0: %14,4; T1: %8,3; T2: %6,7) dördüncü hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (%11,6) sekizinci hafta tekrar azalma eğilimine girmiştir (%6,5). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun yarısının altında olarak tespit edilmiştir (%5,3). LB grubunda *Clostridiaceae* oranı dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta yarı değerinin altına düşen oran (T0: 7,2; T1: %3,4) ikinci hafta artış göstermiştir (%17,1). Dördüncü hafta tekrar azalan oran (%3,5) , sekiz (%7,4) ve on ikinci haftalarda artarak başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değere ulaşmıştır (%7,9). MSG+LB grubunda da kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Clostridiaceae* oranı (T0: %6,5; T1: %3,6; T2: %3,7; T4: %7,5; T8: %5,4) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğuna yakın bir değerde görülmüştür (%4,7) (Şekil 3.22).

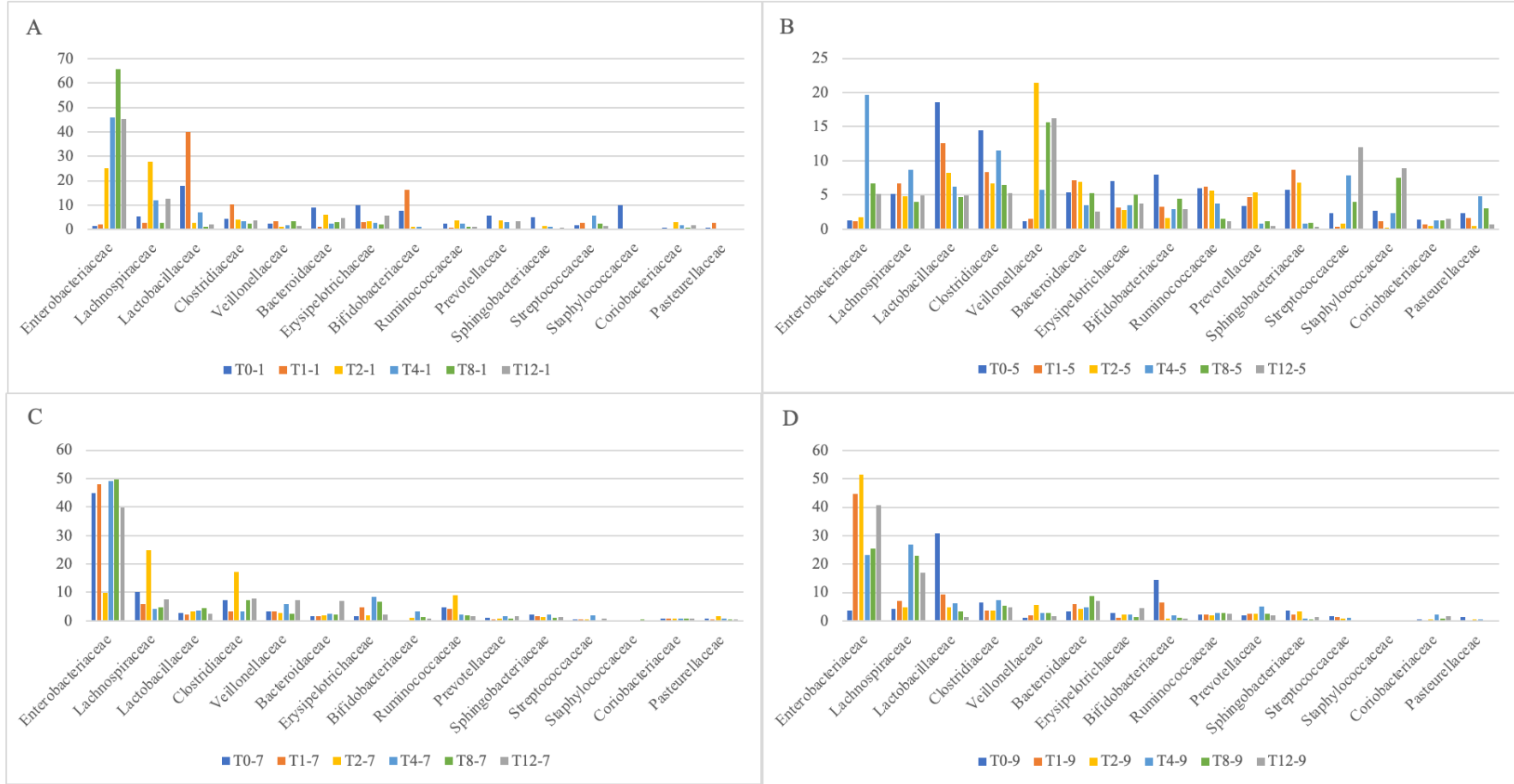
Gruplarda yer alan sıçanların dışkılarında sıklıkla tespit edilen bir diğer grup olan *Veillonellaceae* oranı başlangıç grubunda düşük bir başlangıç değerine sahip olup (%2,3) deney boyunca kısıtlı bir aralıkta takip edilmiştir (T1: %3,4; T2: %1,0; T4: %1,6; T8: %3,5). Deney sonunda da başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde olduğu görülmüştür (%1,5). MSG grubunda ilk hafta belirgin bir değişiklik göstermeyen *Veillonellaceae* oranı (T0: %1,1; T1: %1,5) ikinci hafta belirgin bir artış göstererek %21,4 seviyesine ulaşmıştır. Dördüncü hafta azalan oran (%5,8), sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar artış göstermiş, başlangıçtaki nispi çokluğun on altı kadar olarak deney sonlanmıştır (T8: %15,6; T12: %16,2). LB grubunda da *Veillonellaceae* oranı ilk hafta belirgin bir değişiklik göstermemiştir (T0: %3,3; T1: %3,2). İkinci hafta bir miktar azaldıktan sonra (%2,6) dördüncü hafta artmış (%5,8), sekizinci hafta tekrar azalma göstermiştir (%2,6). Deney sonunda tekrar artarak başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık iki katı olarak sonlanmıştır (%7,2). MSG+LB grubunda düşük bir başlangıç değerine sahip olan *Veillonellaceae* oranı (%1,3) ikinci hafta gösterdiği kısmi artış haricinde (T0: %1,9; T2: %5,7) çok büyük bir değişiklik göstermemiştir (T4: %2,9; T8: %2,9). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde izlenmiştir (%1,8) (Şekil 3.22).

Kontrol grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Bacteroidaceae* oranı (T0: %8,9; T1: %1,1; T2: %6,0; T4: %2,4; T8: %3,2) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısı olarak gözlenmiştir (%4,6). MSG grubunda da benzer şekilde kısıtlı

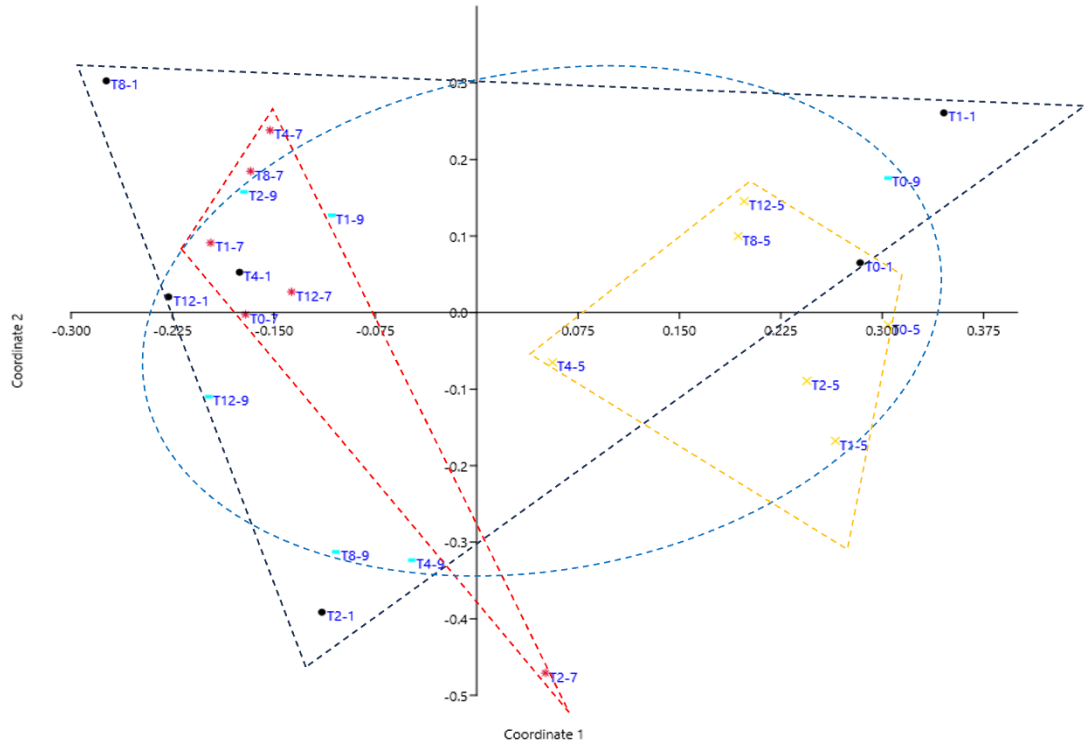
bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiş olan *Bacteroidaceae* oranı deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yarısından az olarak tespit edilmiştir (%2,6). LB grubunda deney süresince çok belirgin değişiklik göstermeyen *Bacteroidaceae* oranı (T0: %1,5; T1: %1,7, T2: %2,0; T4: %2,4; T8: %2,3) deney sonunda bir miktar artış göstererek %6,9 seviyesine ulaşmıştır. MSG+LB grubunda da kontrol ve MSG grupları ile benzer şekilde kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiş (T0: %3,5; T1: %6,0; T2: %4,3; T4: %4,8; T8: %8,9), deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık iki katı olarak tespit edilmiştir (%7,0) (Şekil 3.22).

Yukarıdaki belirtilen familyalara kıyasla daha az olmakla birlikte, dışkı örneklerinde yaygın olarak bulunan diğer familyalardan biri olan *Erysipelotrichaceae* oranı genel olarak tüm gruplarda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiştir. Deney sonunda kontrol ve MSG grubunda başlangıçtaki nispi çokluğun yarısına yakın bir değerde izlenirken (sırasıyla %5,6 ve %3,7), LB ve MSG+LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde tespit edilmiştir (sırasıyla %2,3 ve %4,6). *Bifidobacteriaceae* oranı kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiş (sırasıyla %0,4, %2,9 ve %0,8), LB grubunda ise bir miktar artmakla birlikte oran başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın izlenmişti (%0,7). *Ruminococcaceae* oranı ise deney sonunda kontrol, MSG ve LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiş (sırasıyla %1,0, %1,2 ve 1,6), MSG+LB grubunda da deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa oldukça yakın bir değerde izlenmiştir (%2,6) (Şekil 3.22).

Deney gruplarının familya seviyesi PCoA grafiklerinde MSG ve LB grupları, kontrol ve MSG+LB gruplarına kıyasla daha kümeli bir dağılım göstermektedir (Şekil 3.23). Ek olarak, kontrol ve MSG+LB gruplarının dağılımı birbirine benzerdir. Bu doğrultuda deney boyunca bu grupların familya seviyesi mikrobiyota kompozisyonunda MSG ve LB grupları ile kıyaslandığında daha belirgin değişiklikler meydana gelmiştir. Grupların T0 ve T12 noktası değerleri arasındaki uzaklıklar değerlendirildiğinde ise benzer şekilde kontrol ve MSG+LB grupları için bu uzaklıkların benzer ve MSG ile LB gruplarından fazla olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu gruplarda deney sonunda görülen değişimin MSG ve LB gruplarına kıyasla daha fazla olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.22. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 10 familya A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.23. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların familya Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın cinslerin *Escherichia*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Veillonella* olduğu ve bunları *Allobaculum*, *Bifidobacterium*, *Serratia*, *Clostridium*, *Prevotella* familyalarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.24). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde cins dağılımının %14,3 *Lactobacillus*, %10,3 *Allobaculum*, %10,1 *Staphylococcus*, %9,3 *Bacteroides*, %8,2 *Bifidobacterium*, %5,9 *Prevotella*, %4,4 *Blautia*, %3,2 *Pediococcus*, %2,4 *Olivibacter*, %2,1 *Clostridium* ve %29,9 diğer cinsler şeklinde olduğu görülmüştür. MSG grubunda bu dağılım %15,3 *Lactobacillus*, %8,5 *Bifidobacterium*, %7,7 *Clostridium*, %7,4 *Allobaculum*, %5,9 *Alkaliphilus*, %5,8 *Bacteroides*, %5,5 *Ruminococcus*, %3,7 *Blautia*, %3,7 *Prevotella*, %3,4 *Olivibacter* ve %33,1 diğer cinsler olarak saptanmıştır. LB grubunda cins dağılımı %29,8 *Escherichia*, %10,3 *Blautia*, %4,6 *Ocsillospira*, %4,5 *Serratia*, %2,9 *Veillonella*, %2,7 *Sedimentibacter*, %2,7 *Alkaliphilus*, %2,3 *Lactobacillus*, %2,3 *Pelagicoccus*, %2,1 *Allobaculum* ve %35,9 diğer cinsler olarak izlenmiştir. MSG+LB grubunda başlangıç noktası cins dağılımının ise %23,3 *Lactobacillus*, %15,6 *Bifidobacterium*, %7,0 *Pediococcus*, %5,5 *Bacillus*, %4,2 *Paenibacillus*, %3,9 *Alkaliphilus*, %3,8 *Bacteroides*, %3,6 *Blautia*, %3,0 *Allobaculum*, %2,4 *Clostridium* ve %27,8 diğer cinsler şeklinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.24).

Kontrol ve müdahale gruplarındaki dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en sık gözlemlenen cins olan *Escherichia* kontrol grubunda düşük bir başlangıç zamanı değerine sahiptir (%0,5). İlk hafta belirgin bir değişim gözlemlenmezken (%0,7), ikinci hafta itibarıyla bir artış eğilimine giren oran (T2: %15,8; T4: %30,1; T8: %39,9) deney sonunda azalma göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık elli katı olarak izlenmişti (%25,5). MSG grubunda *Escherichia* oranı benzer şekilde düşük bir başlangıç zamanı değerine sahip olup (%0,4), ilk iki haftada belirgin değişiklik göstermemiştir (sırasıyla %0,4 ve %0,5). Dördüncü haftada %10,6 değerine ulaşmış olmakla birlikte deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğuna yakın bir değerde izlenmiştir (%2,1). LB grubunda diğer gruplara kıyasla yüksek bir başlangıç değerine sahip olan *Escherichia* oranı (%29,8), ilk hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (%32,8) ikinci hafta belirgin şekilde azalmıştır (%5,5). Dördüncü hafta tekrar belirgin bir şekilde arttıktan sonra (%34,1) sekiz ve on ikinci haftalarda azalma göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun altında bir değerde sonlanmıştır (T8: %28,7; T12: %21,6). MSG+LB grubunda ilk hafta belirgin şekilde artış gösteren *Escherichia* oranı (T0: %1,9; T1: %29,7) ikinci haftada da bir miktar arttıktan sonra (%33,7) azalma trendine girmiştir (T4: %14,3; T8: %12,5). Deney sonunda tekrar artış gösteren oran başlangıçtaki nispi çokluğun on katının üzerinde izlenmiştir (%22,7). Sık görülen bir diğer cins olan *Blautia* oranı

kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta yarı değerinin altına düşen oran (T0: %4,4; T1: %2,1), ikinci hafta belirgin bir artış göstermiştir (%29,3). Dört ve sekizinci haftalardan azalan oran (sırasıyla %13,0 ve %3,0) deney sonunda tekrar artış göstererek %14,5 değerine ulaşmıştır. MSG grubunda kontrol grubuna benzer bir başlangıç değerine sahip olan *Blautia* oranı (%3,7) deney boyunca çok büyük bir değişiklik göstermemiştir (T1: %4,8; T2: %4,0; T4: %6,4; T8: %3,1; T12: %4,3). LB grubunda kontrol grubuna benzer şekilde dalgalı bir seyir izleyen *Blautia* oranı ilk hafta yarı oranına düşmüştür (T0: %10,3; T1: %5,1). İkinci hafta artış göstererek %17,9 değerine ulaştıktan sonra dördüncü hafta tekrar azalmıştır (%4,0). Sekizinci hafta belirgin bir değişiklik göstermemiş (%4,7), deney sonunda ise bir miktar artmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%6,6). MSG+LB grubunda da *Blautia* oranının dalgalı bir seyir izlediği gözlenmiştir. İlk hafta artış gösteren oran (T0: %3,6; T1: %6,2) ikinci hafta azalarak %4,8 seviyesine inmiştir. Dördüncü hafta belirgin bir artış gösterdikten sonra (%23,7) sekiz ve on ikinci haftalarda oran azalmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun dört katına yakın olarak izlenmiştir (T8: %20,0; T12: %14,0) (Şekil 3.24).

Kontrol grubunda ilk hafta iki katını aşacak şekilde artış gösteren *Lactobacillus* oranı (T0: %14,3; T1: %30,8) ikinci hafta belirgin bir şekilde azalmıştır (%1,9). Dördüncü hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (%5,6) sekizinci hafta tekrar azalan oran (%1,3) deney sonunda belirgin bir değişiklik göstermemiş, başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (%1,6). MSH grubunda kontrol grubuna benzer bir başlangıç değerine sahip olan *Lactobacillus* oranı (%15,3) sekizinci haftaya kadar bir azalma eğilimi izlemiştir (T1: %9,7; T2: %5,8; T4: %4,4; T8: %3,3). Deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun altında olarak izlenmiştir (%4,1). LB grubunda düşük bir başlangıç zamanı değerine sahip olan *Lactobacillus* oranı (%2,3) deney boyunca çok büyük değişiklik göstermemiş (T1: %1,9 T2: %3,0; T4: %3,6; T8: %3,1) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğuna oldukça yakın olarak tespit edilmiştir (%2,0). Başlangıç zamanında %23,3 olan MSG+LB grubu *Lactobacillus* oranı, ilk hafta yaklaşık üçte biri değerine düşmüş (%8,3), ikinci haftada da azalma devam etmiştir (%4,6). Dördüncü hafta oran bir miktar artmakla birlikte (%5,5) sekiz ve on ikinci haftalarda tekrar bir azalma gözlenmiştir (T8: %2,7; T12: %1,1) (Şekil 3.24).

Bacteroides oranı kontrol grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta belirgin bir şekilde azalan oran (T0: %9,3, T1: %1,1) ikinci hafta ise tekrar artmıştır (%6,8). Dördüncü hafta azalma gösterdikten sonra (%3,0) sekiz ve on ikinci haftada artış gösteren oran başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (T8: %4,4; T12: %5,7). MSG grubunda da

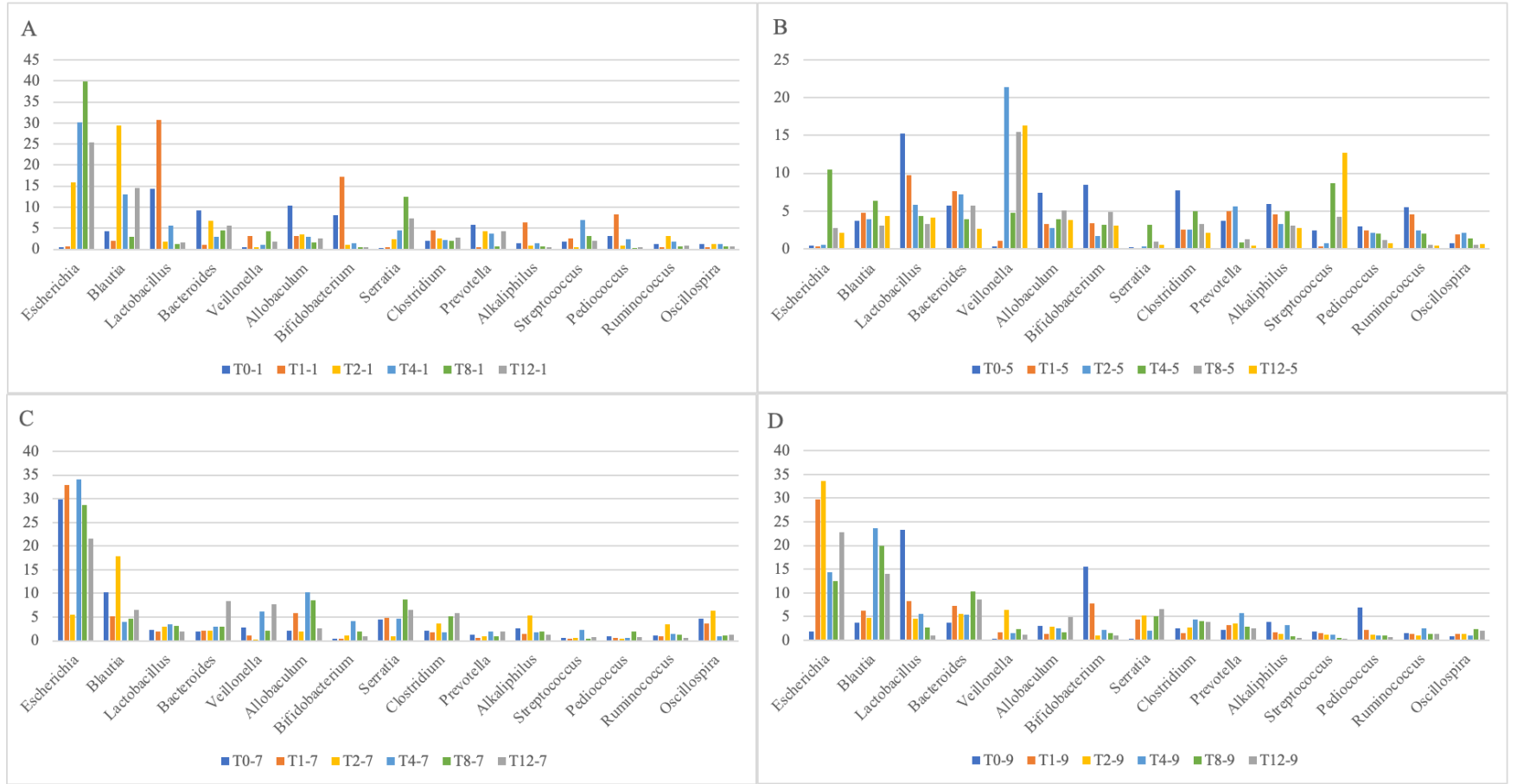
Bacteroides oranı için dalgalı bir seyir görülmüştür. İlk hafta bir miktar artan oran (T0: %5,8; T1: %7,7), ikinci hafta belirgin bir değişiklik göstermemiştir (%7,2). Dördüncü hafta azalan oran (%3,9), sekizinci haftada artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğu yakalamıştır (%5,8). Deney sonunda ise tekrar bir azalma göstererek başlangıç değerinin yarısının altında kalmıştır (%2,7). Düşük bir başlangıç değerine sahip olan LB grubu *Bacteroides* oranı (%1,9) sekizinci haftaya kadar belirgin değişiklik göstermemiştir (T1: %2,1; T2: %2,2; T4: %3,0; T8: %3,0). Deney sonunda ise artış göstermiş ve başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dört katı olarak izlenmiştir (%8,5). MSG+LB grubunda MSG grubu benzeri dalgalı bir seyir gözlenmiştir. İlk hafta artış gösteren oran (T0: %3,8; T1: %7,3), ikinci hafta bir miktar azalmıştır (%5,6). Dördüncü hafta belirgin bir değişiklik gözlemlenmezken, sekizinci hafta iki katına ulaşacak şekilde artış göstermiştir (%10,2). Deney sonunda ise miktar azalmış olmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinde kalmıştır (%8,5) (Şekil 3.24).

Dışkı örneklerinde sıklıkla gözlemlenen bir diğer cins olan *Veillonella* oranı kontrol grubunda başlangıç zamanında düşük bir değerde tespit edilmiştir (%0,5). Deney boyunca dalgalı bir seyir izleyen oran dördüncü haftada en yüksek değerine ulaştıktan sonra (T1: %3,1; T2: 0,5; T4: %1,1; T8: %4,4) azalma göstermiş ve deney sonunda %1,7 olarak tespit edilmiştir. MSG grubunda da kontrol grubuna benzer bir seyir izleyen *Veillonella* oranı ilk hafta belirgin bir değişim göstermezken (T0: %0,3; T1: %1,1) ikinci hafta belirgin bir şekilde artarak en yüksek değerine ulaşmıştır (%21,4). Dördüncü haftada tekrar azalan oran (%4,8), sekiz ve on ikinci haftalarda artış göstermiş, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık 50 katı olarak tespit edilmiştir (T8: 15,5; T12: %16,0). LB grubunda da benzer şekilde dalgalı bir seyir izleyen *Veillonella* oranı (T0: %2,9; T1: %1,0; T2: %0,3; T4: %6,1; T8: 2,2) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinde izlenmiştir (%7,7). MSG+LB grubunda da dalgalı bir seyir izlediği görülen *Veillonella* oranı ikinci hafta en yüksek değerine ulaşmış (T0: %0,4, T1: %1,7, T2: 6,4; T4: %1,5, T8: %2,4), deney sonunda ise başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık üç katı olarak tespit edilmişti (%1,2) (Şekil 3.24).

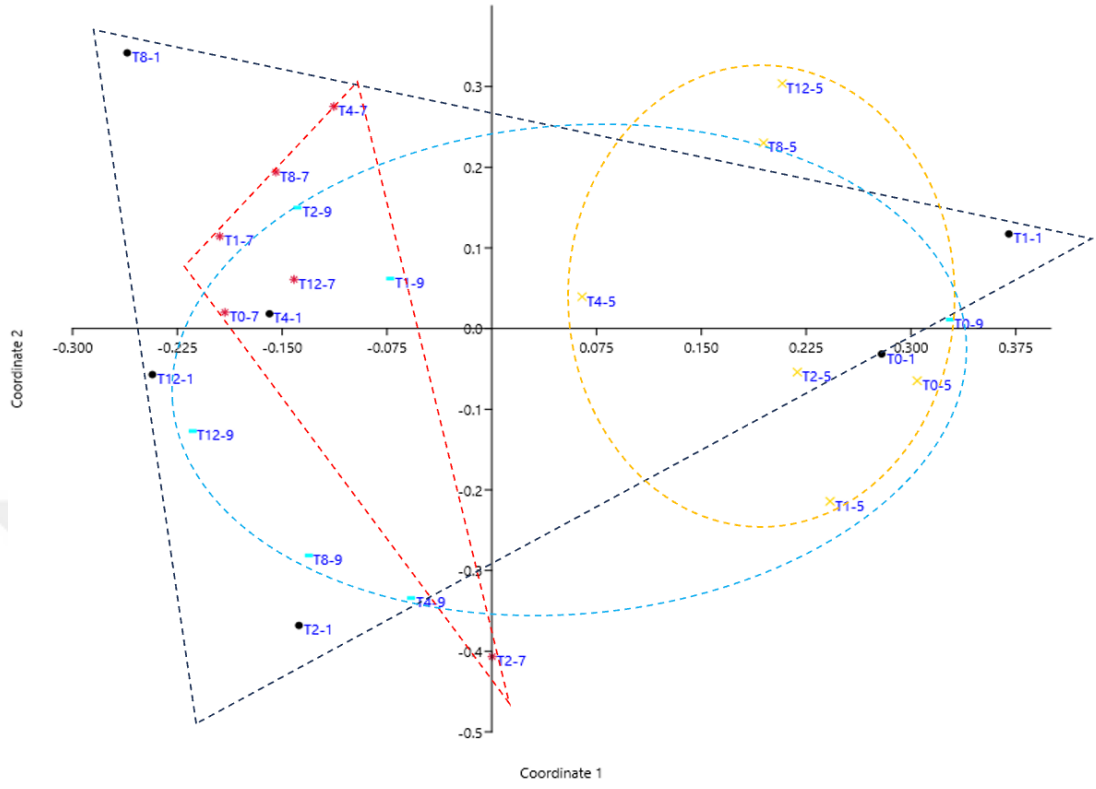
Yukarıda sayılan cinslere ek olarak sıklıkla tespit edilen diğer cinsler olan *Allobaculum* ve *Bifidobacterium* oranları deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın veya altında kalan değerlerde tespit edilmiştir. *Allobaculum* oranı kontrol ve MSG gruplarında başlangıç değerinin altına düşerken (sırasıyla %2,5 ve %3,8) LB ve MSG+LB grupları için deney sonu değeri başlangıç değerine yakın olarak izlenmişti (sırasıyla %2,6 ve 4,9). *Serratia* oranı tüm gruplar için deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinden gözlenmiştir (Kontrol: %7,4; MSG: %0,5; LB: %6,6; MSG+LB: %6,6). *Clostridium* oranı MSG grubu için

deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalırken (%2,2) diğer gruplarda artış tespit edilmiştir (Kontrol: %2,8; LB: %5,8; MSG+LB: %3,8). *Alkaliphilus* oranı ise tüm gruplar için deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında tespit edilmiştir (Kontrol: %0,5; MSG: %2,8; LB: %1,3; MSG+LB: %0,5) (Şekil 3.24).

Deney gruplarının cins dağılımının incelendiği PCoA grafiğinde MSG ve LB gruplarının, kontrol ve MSG+LB gruplarına göre daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.25). Dolayısıyla kontrol ve MSG+LB gruplarında deney boyunca cins seviyesi mikrobiyota kompozisyonunda MSG ve LB gruplarına kıyasla ile daha belirgin değişiklikler meydana geldiği anlaşılmaktadır. Grupların T0 ve T12 noktası değerleri arasındaki uzaklıklar değerlendirildiğinde kontrol ve MSG+LB grupları için bu uzaklıkların benzer ve diğer gruplardan daha fazla olduğu; bu grupları sırasıyla MSG ve LB gruplarının takip ettiği görülmektedir. Bu doğrultuda deney sonunda en fazla değişim görülen grupların kontrol ve MSG+LB olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.24. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 15 cins A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.25. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların cins Temel Koordinat Analizi (PCoA)

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan dişi sıçanların dışkılarındaki baskın türlerin sırasıyla *Escherichia albertii*, *Allobaculum stercoricanis*, *Veillonella criceti*, *Serratia entomophila*, *Blautia coccoides* olduğu ve bunları *Bifidobacterium choerinum*, *Pediococcus argentinicus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Alkaliphilus crotonatoxidans*, *Bacteroides sartorii* türlerinin takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.26). Kontrol grubu dişi sıçanların başlangıç zamanı dışkı örneklerinde tür dağılımının %15,8 *Allobaculum stercoricanis*, %9,1 *Bifidobacterium choerinum*, %5,3 *Lactobacillus ultunensis*, %4,7 *Pediococcus argentinicus*, %2,9 *Lactobacillus johnsonii*, %2,6 *Blautia coccoides*, %2,3 *Lactobacillus antri*, %2,3 *Paraprevotella clara* ve %55,1 diğer türler şeklinde olduğu görülmüştür. MSG grubu başlangıç zamanı tür dağılımı %10,2 *Allobaculum stercoricanis*, %8,5 *Bifidobacterium choerinum*, %6,4 *Lactobacillus johnsonii*, %5,8 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %5,2 *Ruminococcus albus*, %4,0 *Pediococcus argentinicus*, %3,7 *Clostridium histolyticum*, %3,4 *Clostridium cadaveris*, %3,4 *Lactobacillus ultunensis*, %2,1 *Ruminococcus callidus* ve %47,3 diğer türler olarak tespit edilmiştir. LB grubu başlangıç zamanı tür dağılımı %40,4 *Escherichia albertii*, %6,1 *Serratia entomophila*, %4,9 *Blautia coccoides*, %3,8 *Blautia coccoides*, %3,8 *Sedimentibacter hydroxybenzoicus*, %3,4 *Veillonella criceti*, %3,2 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %2,8 *Allobaculum stercoricanis*, %2,1 *Vibrio pectenicida*, %2,0 *Caldilinea tarbellica* ve %31,2 diğer türler olarak izlenmiştir. MSG+LB grubunda ise bu dağılımın %15,2 *Bifidobacterium choerinum*, %10,1 *Lactobacillus johnsonii*, %6,6 *Pediococcus argentinicus*, %5,9 *Paenibacillus cellulosilyticus*, %4,5 *Lactobacillus ultunensis*, %4,1 *Allobaculum stercoricanis*, %2,9 *Alkaliphilus crotonatoxidans*, %2,7 *Lactobacillus antri*, %2,7 *Lactobacillus vaginalis*, %2,6 *Pediococcus cellicola*, %2,6 *Escherichia albertii*, %2,5 *Lactobacillus taiwanensis* ve %37,7 diğer türler şeklinde olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.26).

Kontrol grubunda düşük bir başlangıç zamanı değerine sahip olan *Escherichia albertii* oranı (%0,8) ilk hafta belirgin bir değişim göstermezken (%0,8) ikinci hafta itibarıyla bir artış eğilimine girmiştir (T2: %23,9; T4: %38,8; T8: %46,8). Deney sonunda ise bir miktar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun kırk katının üzerinde olarak tespit edilmiştir (%36,1). MSG grubunda kontrol grubuna benzer şekilde düşük bir başlangıç değerine sahip olan *Escherichia albertii* oranı (%0,6) ilk iki hafta belirgin bir değişim göstermezken (T1: %0,6; T2: %0,7) dördüncü hafta artarak en yüksek değerine ulaşmıştır (%15,5). Sekizinci hafta azalan oran (%3,8) deney sonunda belirgin bir değişiklik göstermemiş, başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık beş katı olarak tespit edilmiştir (%3,1). LB grubunda diğer gruplara kıyasla yüksek bir başlangıç zamanı değerine sahip olan *Escherichia albertii* oranı (%40,4) ilk hafta belirgin bir değişiklik göstermezken (%41,5), ikinci hafta azalarak %8,8 değerine düşmüştür.

Dördüncü hafta artış göstererek başlangıç seviyesini yakalayan oran (%40,0) sekiz ve on ikinci haftalarda azalarak deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında izlenmiştir (T8: %34,5; T12: %27,1). MSG+LB grubunda ilk iki hafta belirgin bir artış gösteren *Escherichia albertii* oranı (T0: %2,6; T1: %37,8; T2: %41,2) dört ve sekizinci haftalarda azalma eğilimi göstermişti (T4: %21,0; T8: %18,7). Deney sonunda ise tekrar artış gösteren oran başlangıçtaki nispi çokluğun on katının üzerinde izlenmiştir (%41,2) (Şekil 3.26).

Sıklıkla görülen bir diğer tür olan *Allobaculum stercoricanis* oranı kontrol grubunda ilk hafta belirgin bir şekilde azalmıştır (T0: %15,8; T1: %4,2). İki ve dördüncü haftalarda belirgin bir değişim göstermeyen oran (sırasıyla %5,3 ve %3,8) sekizinci hafta bir miktar azalmıştır (%1,9). Deney sonunda ise tekrar bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık dörtte biri değerinde izlenmiştir (%3,8). MSG grubunda da kontrol grubuna benzer şekilde ilk hafta azalan *Allobaculum stercoricanis* oranı (T0: %10,2; T1: %4,9) deneyin geri kalanında belirgin bir değişiklik göstermemiş (T2: %3,9; T4: %5,4; T8: %6,6) ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık yarısı olarak tespit edilmiştir (%5,3). *Allobaculum stercoricanis* oranı LB grubunda dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta artan oran T0: %2,8; T1: %7,4 ikinci hafta azalarak başlangıç seviyesine yaklaşmıştır (%3,3). Dördüncü hafta artarak en yüksek değerine ulaşan oran (%11,9) sekiz ve on ikinci haftalarda azalma göstermiş, başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde deney sonlanmıştır (T8: %9,6; T12: %3,2). MSG+LB grubunda *Allobaculum stercoricanis* oranı kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izlemiş (T0: %4,1; T1: %1,8; T2: 3,7; T4: 3,6; T8: %2,3), deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinde izlenmiştir (%6,6) (Şekil 3.26).

Veillonella criceti oranı başlangıçta kontrol grubunda düşük bir değere sahip olup (%0,4) birinci hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (%3,8) ikinci hafta azalarak %0,5 seviyesine düşmüştür. Dört ve sekizinci haftalarda tekrar artış gösterdikten sonra (T4: 0,9; T8: %3,8) deney sonunda azalarak %0,9 seviyesinde izlenmiştir. MSG grubunda kontrol grubu ile benzer bir başlangıç değerine sahip olan *Veillonella criceti* oranı (%0,3) dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk hafta bir miktar artarken (%1,4), ikinci hafta belirgin bir artış görülmüştür (%27,5). Dördüncü hafta belirgin bir şekilde azalan oran (%6,1) sekiz ve on ikinci haftalarda artış göstermiş, deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altmış katına yakın izlenmiştir (T8: %16,0; T12: %20,0). LB grubunda diğer gruplara kıyasla bir miktar daha yüksek olan *Veillonella criceti* oranı (%3,4) yine dalgalı bir seyir izlemiştir. İlk iki hafta azalma eğiliminde olan oran (T1: %1,1; T2: %0,5) dördüncü hafta artış göstermiştir (%6,0). Sekizinci haftada tekrar azaldıktan sonra (%1,9) deney sonunda artarak başlangıçtaki nispi çokluğun yaklaşık

iki katına ulaşmıştır (%7,4). MSG+LB grubunda kontrol ve MSG gruplarıyla benzer bir başlangıç zamanı değerine sahip olan *Veillonella criceti* oranı (%0,3) ilk iki hafta artış göstermiştir (T1: %1,9; T2: %7,0). Dördüncü hafta azalan oran (%1,9), sekizinci hafta bir miktar artış göstermiştir (%2,6). Deney sonunda ise tekrar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun dört katının üzerinde izlenmiştir (%1,5) (Şekil 3.26).

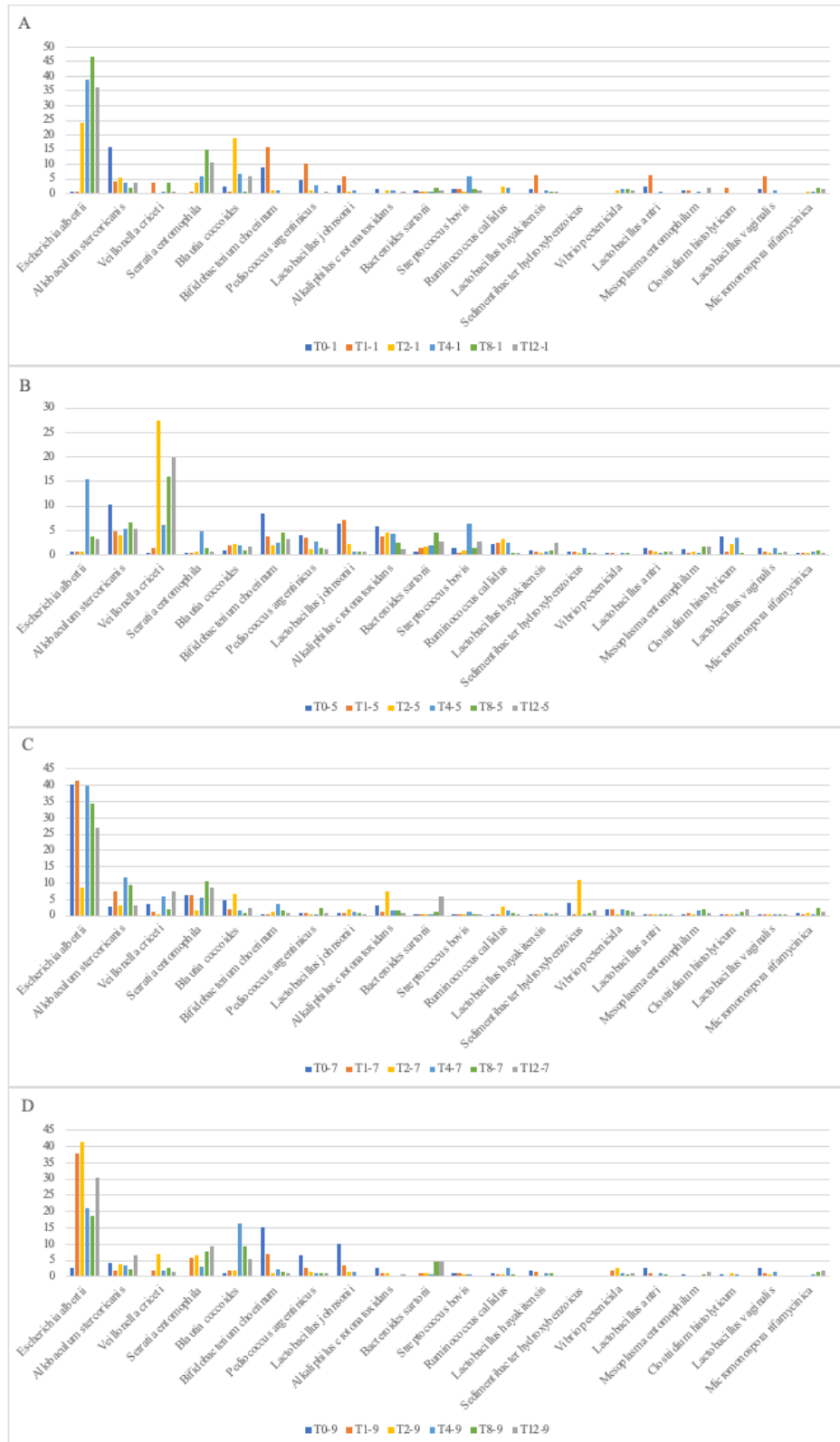
Serratia entomophila oranı kontrol grubunda sekizinci haftaya kadar kademeli bir artış göstermiş (T0: %0,4; T1: %0,7; T2: %3,6; T4: %5,8; T8: %15,1) deney sonunda ise bir miktar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun üzerinde tespit edilmiştir (%10,9). MSG grubunda ise en yüksek değerine dördüncü haftada ulaşan *Serratia entomophila* oranı (T0: %0,3; T1: %0,3; T2: %0,6; T4: %4,7; T8: %1,4) deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde tespit edilmiştir (%0,7). LB grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek bir başlangıç zamanı değerine sahip olan *Serratia entomophila* oranı (%6,1) ilk hafta belirgin bir değişim göstermemiştir (%6,2). İkinci hafta azalan oran (%1,5) dört ve sekizinci haftalarda artış göstermiştir (sırasıyla %5,6 ve %10,7). Deney sonunda azalan olan başlangıçtaki nispi çokluğun bir miktar üzerinden izlenmiştir (%8,6). MSG+LB grubunda ilk hafta on katına çıkan *Serratia entomophila* oranı (T0: %0,5; T1: %5,7) ikinci hafta belirgin bir değişim göstermemiştir (%6,6). Dördüncü hafta bir miktar azalan oran (%2,9) sekiz ve on ikinci haftalarda artış göstermiş, başlangıçtaki nispi çokluğun yirmi katına yakın bir değere ulaşmıştır (T8: %7,6; %T12: 9,3) (Şekil 3.26).

Blautia coccoides oranı kontrol grubunda ilk hafta azaldıktan sonra ikinci hafta belirgin şekilde artmış ve en yüksek değerine ulaşmıştır (T0: %2,6; T1: %0,7; T2: %18,8). Dört ve sekizinci haftalarda azalan oran (sırasıyla %7 ve %0,9) deney sonunda artış göstererek başlangıçtaki nispi çokluğun iki katının üzerinde tespit edilmiştir (%5,8). MSG grubunda kısıtlı bir aralıkta dalgalı bir seyir izleyen *Blautia coccoides* oranı ilk iki hafta bir miktar artış gösterdikten sonra (T0: %1,0; T1: %1,8; T2: %2,1), dört ve sekizinci haftalarda bir miktar azalmıştır (sırasıyla %2,0 ve %0,8). Deney sonunda tekrar artan oran başlangıçtaki nispi çokluğa yakın bir değerde gözlenmiştir (%1,6). LB grubunda ilk hafta azalan *Blautia coccoides* oranı (T0: %4,9; T1: %2,1) ikinci hafta artış göstererek en yüksek değerine ulaşmıştır (%6,6). Dört ve sekizinci haftalarda tekrar azalan oran (sırasıyla %1,8 ve %1,1) deney sonunda bir miktar artış göstermekle birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (%2,4). MSG+LB grubunda ilk iki hafta belirgin bir değişiklik göstermeyen *Blautia coccoides* oranı (T0: %1,2; T1: %2,1; T2: %1,8) dördüncü haftada belirgin şekilde artarak

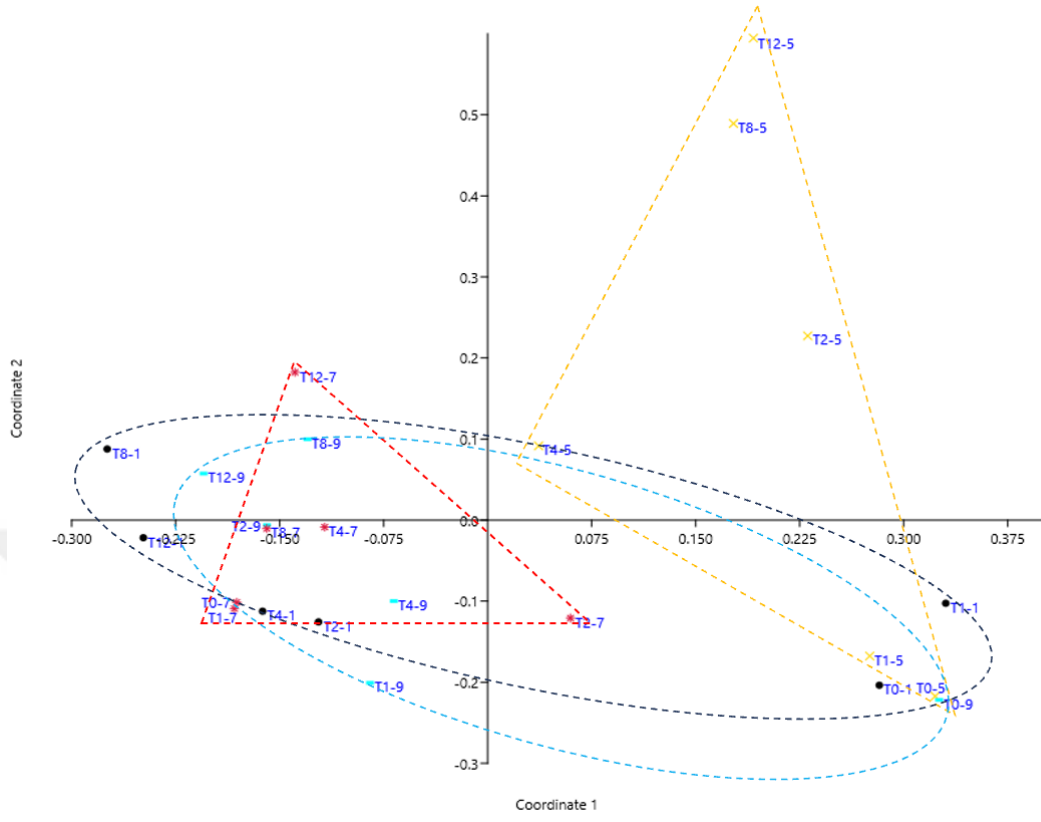
%16,2 değerine ulaşmıştır. Sekiz ve on ikinci haftalarda ise oran tekrar azalmakla birlikte başlangıçtaki nispi çokluğun dört katının üzerinde olduğu tespit edilmiştir (%5,3) (Şekil 3.26).

Deney sonunda *Bifidobacterium choerinum* oranı kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun altında tespit edilmiş (sırasıyla %0,2, %3,3 ve %1,1), LB grubunda ise bir miktar artmış olmakla birlikte başlangıç değerine yakın olduğu görülmüştür (%0,8). *Pediococcus argentinicus* oranı da benzer bir tablo çizmiş; kontrol, MSG ve MSG+LB gruplarında başlangıçtaki nispi çokluğun altında (sırasıyla %0,7, %1,2 ve %1,0) LB grubunda ise düşük miktarda bir artışla başlangıç değerine yakın izlenmiştir (%0,9). *Lactobacillus johnsonii* ve *Alkaliphilus crotonatoxidans* oranları tüm gruplarda dalgalı bir seyir izlemiş ve deney sonunda başlangıçtaki nispi çokluğun altında kalmıştır (Kontrol: %0,4, 0,7; MSG: %0,6, %1,2; LB: %0,6, %1,0; MSG+LB: %0,5, %0,5) (Şekil 3.26).

Deney gruplarının tür dağılımının incelendiği PCoA grafiğinde MSG ve LB gruplarının, kontrol ve MSG+LB gruplarına göre daha kümeli bir dağılım gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.27). Dolayısıyla kontrol ve MSG+LB gruplarında deney boyunca cins seviyesi mikrobiyota kompozisyonunda MSG ve LB gruplarına kıyasla ile daha belirgin değişiklikler meydana geldiği anlaşılmaktadır. Grupların T0 ve T12 noktası değerleri arasındaki uzaklıklar değerlendirildiğinde kontrol ve MSG+LB grupları için bu uzaklıkların benzer ve diğer gruplardan daha fazla olduğu; bu grupları sırasıyla MSG ve LB gruplarının takip ettiği görülmektedir. Bu doğrultuda deney sonunda en fazla değişim görülen grupların kontrol ve MSG olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.26. Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında en fazla görülen 20 tür A) Kontrol grubu, B) MSG grubu, C) LB grubu, D) MSG+LB grubu sıçanlarda zamana göre değişim



Şekil 3.27. Tüm gruplarda yer alan dişi sıçanların tür Temel Koordinat Analizi (PCoA)

3.4. Sıçanların Dışkı Mikrobiyota Çeşitliliğinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve müdahale gruplarındaki erkek ve dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasındaki türler arası alfa çeşitlilik Shannon çeşitlilik indeksi ile ölçülmüştür. Kontrol grubu erkek sıçanların fekal mikrobiyota çeşitliliği deney süresince düşük miktarda dalgalanma göstermekle birlikte deney sonunda (3,112) başlangıçtaki değere (3,108) oldukça yakın olarak izlenmiştir ($p>0,05$) (Çizelge 3.1). MSG grubu erkek sıçanlarda ilk haftada görülen artışı (4,184) ikinci hafta itibarıyla (3,912) düzenli bir azalma eğilimi izlemiştir. Deney sonunda ise çeşitlik tekrar artmış olmakla (3,612) birlikte başlangıç değerine (4,067) göre düşük kalmıştır ($p<0,001$). LB grubu erkek sıçanların fekal mikrobiyota çeşitlilikleri deney boyunca dalgalı bir seyir izlemiştir. Deney sonunda ise çeşitliliğin başlangıca göre artmış olduğu ve çeşitlilikteki zaman bağlı görülen değişimin anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). MSG+LB grubu erkek sıçanların fekal mikrobiyota çeşitliliği de dalgalı bir seyir izlemiş, deney sonunda başlangıca göre düşük olarak tespit edilmiştir. Çeşitlilikte zaman ile görülen değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).

MSG grubunda yer alan dişi sıçanların fekal mikrobiyota çeşitliliğinin deney süresince dalgalı bir seyir gösterdiği ($p<0,001$), deney sonunda (4,047) ise başlangıca göre azalmış olduğu (3,615) gözlenmiştir. LB grubu dişi sıçanlarda çeşitlilik benzer şekilde dalgalı bir seyir göstermiş ($p<0,01$), deney sonunda ise (3,506) başlangıca (3,089) göre artmış olarak izlenmiştir. MSG+LB grubu dişi sıçanlarda da çeşitlilik deney süresince dalgalı bir seyrinde izlenmiş ($p<0,001$), başlangıca (3,761) göre daha düşük bir çeşitlilik ile deney sonlanmıştır (3,257).

Uygulanan müdahaleler sonucunda sıçanların fekal mikrobiyota çeşitliliklerinde görülen değişimlerin, MSG+LB grubu erkek sıçanların T4 ve T8 değerleri hariç, kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$).

Çizelge 3.1. Kontrol ve müdahale grupları erkek ve dişi sıçanların zamana göre dışkı mikrobiyotası Shannon çeşitlilik indeksi değerleri

Zaman	Erkek				Dişi			
	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB
T0	3,108	4,067*	3,062	4,196*	4,022	4,047	3,089*	3,761*
T1	3,205	4,184*	3,603*	3,921*	3,500	4,210*	3,048*	3,186*
T2	3,092	3,912*	2,641 ^a	2,672*	3,447	3,667*	3,908*	2,970*
T4	3,248	3,696 ^a	2,729*	3,396	3,011	3,729*	2,862 ^a	3,586*
T8	3,049	3,262 ^a	2,488*	2,990	2,634	3,871*	3,066*	3,743*
T12	3,112	3,612*	3,655*	3,795*	3,098	3,615*	3,506*	3,257 ^a
<i>p</i> ^β	0,965	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

* *p*<0,05

^a *p*<0,001

^β T0 ve T12 değerleri karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

3.5. Sıçanların Dışkı Mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* Oranının Değerlendirilmesi

Sıçanların dışkı örneklerinde yapılan sekans analizi sonucu elde edilen *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* okuma sayılarının birbirine oranlanması ile elde edilen *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı değerleri Çizelge 3.2.'de sunulmuştur.

Kontrol grubu erkek sıçanlar için *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı deney sonunda başlangıç değerine (1,79) göre artış göstererek 4 katının üzerine (7,67) çıkmıştır. MSG grubunda ise kontrol grubuna kıyasla daha düşük miktarda bir artış görülmüştür (T0: 2,30; T12: 3,28). Başlangıç değeri diğer gruplara kıyasla yüksek (20,92) olan LB grubunda deney sonunda belirgin bir azalma görülmüştür (1,54). MSG+LB grubunda ise deney sonunda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının azalarak yaklaşık üçte biri değerine ulaşmıştır (T0: 6,66; T12: 2,29).

Kontrol grubunda yer alan dişi sıçanlar için *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı deney sonunda (2,98) başlangıç değerine (2,27) göre bir miktar artmıştır. MSG grubunda ise deney sonunda başlangıç değerinin (3,06) 5 katının üzerine çıktığı görülmüştür (17,09). Başlangıç değerleri benzer olan LB ve MSG+LB grubu *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları (sırasıyla 5,12 ve 5,28) deney sonunda bir miktar azalma göstermiştir (sırasıyla 3,12 ve 3,27).

Çizelge 3.2. Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan erkek ve dişi sıçanların zamana göre *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları

Yaş (Hafta)	Erkek				Dişi			
	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB
6	1,79	2,30	20,92	6,66	2,27	3,06	5,12	5,28
7	6,54	2,60	3,43	1,75	30,95	1,75	4,74	1,99
8	2,16	7,83	4,29	1,74	3,41	2,17	11,05	2,09
10	2,90	2,48	5,62	5,13	5,05	7,95	3,77	4,51
14	3,23	5,70	5,64	2,23	3,78	7,66	6,15	3,02
18	7,67	3,28	1,54	2,29	2,98	17,09	3,12	3,27

4. TARTIŞMA

Monosodyum glutamat dünya üzerinde sağlık otoriteleri tarafından besinlerde belirli miktarlarda kullanımı uygun bulunmuş lezzet artırıcı bir gıda katkı maddesidir. Sağlık üzerindeki etkilerine ilişkin çelişkili veriler günümüzde hala devam etmektedir. İşlenmiş, paketli besinlerde ve yemek hizmeti veren kuruluşlarda kullanımı dünya çapında artmaktadır. Mikrobiyotanın şekillenmesinde önemli bir zaman aralığı olan adölesan dönemde paketli ve hazır besinlere maruziyet de artış göstermektedir. Bu doğrultuda bu çalışmada yavru sıçanlarda MSG alımının mikrobiyota üzerinde yarattığı değişimler izlenmiştir. Buna ek olarak *L. bulgaricus*'un MSG ile mikrobiyota arasındaki ilişkiyi nasıl etkilediği araştırılmıştır.

Bu çalışmada dişi sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla MSG'nin vücut ağırlığı kazanımını artırma üzerinde potansiyel bir etkisi olduğu, MSG+LB alımında ise bu etkinin ortadan kalktığı gözlenmiştir. MSG grubundaki erkek sıçanlarda onuncu haftaya kadar belirgin bir etki gözlemlenmezken, on ikinci haftada vücut ağırlığı kazanımını azaltmaya yönelik bir etki gözlenmiştir. *L. bulgaricus* ve MSG+*L. bulgaricus* alımının dişi sıçanların vücut ağırlığı üzerinde potansiyel bir etkisi gözlemlenmezken, *L. bulgaricus*'un erkek sıçanlarda vücut ağırlığı kazanımını azaltma üzerinde potansiyel ve anlamlı bir etkisi olduğu gözlenmiştir. MSG ile kombine *L. bulgaricus* alımı da erkek sıçanlarda benzer etki göstermiştir (Şekil 3.1).

Çalışmada yer alan sıçanlardan elde edilen vücut ağırlığı değerleri literatür verileri ile karşılaştırıldığında, sekiz hafta boyunca besine ilave MSG (9 g MSG/300 g yem) alan sıçanlarda vücut ağırlığında artış bildirilmiştir (Akpamu vd., 2012). Benzer şekilde yeme ilave olarak ticari formatta MSG verilen (500, 750, 1000 veya 1250 mg/kg/gün), sekiz hafta süren bir çalışmada sıçanların vücut ağırlığında artış görülmüştür (Ogbuagu vd., 2019). Ticari (0,2 g/kg/günde iki kez) ve araştırma amaçlı kullanılan formların (0,1, 0,15 veya 0,2 g/kg) karşılaştırıldığı on dört günlük bir çalışmada dişi sıçanlarda iştah, susama ve vücut ağırlığı parametrelerinde artış görülmüştür (Oladipo vd., 2016). Üç ve dört haftalık sıçanlarda altmış gün boyunca farklı dozlarda (100 mg, 400 mg, 2 g veya 4 g/kg/gün) gavaj ile verilen MSG doz yanıtı olmaksızın vücut ağırlığında artışa yol açmıştır (Sreejesh & Sreekumaran, 2018). Sütten kesilmiş domuzlarda 21 gün boyunca, yeme ilave olarak %1, %2 ve %4 oranında MSG alımının doz-yanıt ilişkisi dahilinde günlük ağırlık artışını artırdığı görülmüştür (Rezaei vd., 2013).

Bununla birlikte MSG alımının vücut ağırlığı üzerinde bir etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Farklı periyotlarda (1, 3, 6 veya 9 ay) 2 mg/g/gün alımının sıçanlarda vücut ağırlığını etkilemediği gösterilmiştir (Boonnate vd., 2015). On beş gün boyunca %2 MSG içeren diyetin sıçanlarda vücut ağırlığı üzerinde etkisi olmamıştır (Boutry, 2011). İçme suyunda 6 hafta boyunca 4 g/l MSG alan ratlarda vücut ağırlığında artış bildirilmemiştir (López-Miranda vd., 2015). Benzer çalışmalara kıyasla daha uzun süre (8 hafta) MSG takviyesi (içme suyunda 8, 10 veya 15 g/l) yapılan bir çalışmada da sıçanlarda vücut ağırlığında bir değişim görülmediği bildirilmiştir (Utume vd., 2020). Erkek kemirgenlerde (sıçan, obeziteye yatkın sıçan modeli ve fare) farklı diyetler ile kombine, suya veya yeme ilave %1 veya %3 MSG alımının vücut ağırlığı üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir (Tordoff vd., 2012). Domuzlarda otuz gün boyunca farklı diyetler ile alınan 30 g/kg/gün MSG'nin vücut ağırlığı üzerinde bir etkisi olmamış, fakat iskelet kası lipid içeriği ve yağ asidi profilinde değişime yol açmıştır (Kong vd., 2015).

MSG alımını vücut ağırlığı kontrolü ile ilişkilendiren çalışmalar da mevcuttur. Erkek yavru sıçanlarda (3 haftalık) 15 hafta boyunca farklı diyetlere eşlik eden %1 MSG içeren içme suyu tüketimi ile vücut ağırlığında daha düşük oranda artış, azalmış abdominal yağlanma gözlenmiştir (Kondoh ve Torii, 2008). Farklı bir çalışmada sekiz hafta boyunca farklı diyetler ile kombine, besine ilave 0,1, 0,2 veya 0,4 g/kg MSG alan sıçanlarda standart diyet+MSG alanlarda vücut ağırlığında azalma; yüksek yağlı diyet+MSG alanlarda yalnızca yüksek yağlı diyet alanlara kıyasla vücut ağırlığı artışında azalma görülmüştür (Onaolapo vd., 2019). Gavaj veya enjeksiyon yoluyla verilen MSG genel olarak değerlendirildiğinde <3000 mg/kg dozlarında kilo alımında bir artış ve >3000 mg/kg dozlarında bir azalma göstermiştir (Tabbal, 2022).

Tayland'da 35-55 yaşları arasında 349 kişinin yer aldığı bir çalışmada 10 gün boyunca MSG alımı en yüksek çeyrekte seyredenlerin metabolik sendrom riskinin en yüksek oranda olduğu görülmüştür. Ek olarak, MSG alımındaki her 1 gramlık artışın metabolik sendrom (OR:1,14, %95 CI 1,12-1,28) veya kilolu (OR: 1,16, %95 CI 1,04-1,29) olma riskini anlamlı şekilde artırdığı bildirilmiştir (Insawang vd., 2012). MSG'nin insan sağlığı üzerindeki etkilerini inceleyen çeşitli epidemiyolojik çalışmalar da mevcuttur. Çin'de yürütülen bir kohort çalışmasında katılımcıların besin alımı ve besinlere eklenen MSG miktarı tespit edilmiştir. MSG alımı ve fazla vücut ağırlığı arasında pozitif bir doz-yanıt ilişkisi gözlenmiştir (He vd., 2011). Benzer şekilde Çin'de gerçekleştirilen bir diğer kohort çalışmasında MSG alımı besin tüketim sıklığı anketi ile tespit edilmiştir. Beş yılın sonunda hem kesitsel hem

uzunlamasına bakıldığında MSG alımı ile vücut ağırlığı ve BKİ’de artış olduğu gözlenmiştir (Shi vd., 2010, 2011, 2014).

Kesitsel bir çalışmada gıda ve MSG alımı sırasıyla 3 ardışık günde 24 saatlik geriye dönük besin tüketim kaydı ile değerlendirilmiş, kullanılan baharat ve çeşnilerin miktarı tartım yolu ile tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda MSG alımı ile aşırı kilolu olma arasında bir ilişki bulunmamıştır (Thu Hien vd., 2013). Farklı bir kesitsel çalışmada besin tüketimi 3 hafta ara ile alınan 2 günlük besin tüketim kaydı ile tespit edilmiştir. MSG alımının tespitinde aynı zamanda katılımcıların kullanılan MSG içeren çeşni bildirimleri, soya sosu ve gıda etiketlerinden MSG içeriğinin tespiti, üretici, market, restoranlardan MSG içeriklerinin öğrenilmesi de dahil edilmiştir. MSG, BKİ ve vücut ağırlığı ile pozitif ilişkili bulunmuş ve bu durumun kadınlarda daha belirgin olduğu bildirilmiştir (He vd., 2008). Bir diğer kesitsel çalışmada üç günlük besin tüketim kaydı alınmış ve MSG alımı bu şekilde tespit edilmiştir. MSG kullanan ve kullanmayan bireylerin BKİ değerleri arasında bir farklılık olmadığı görülmüştür (Tanphaichitr vd., 2000). *L. bulgaricus*’un vücut ağırlığı üzerindeki etkisine ilişkin veri kısıtlı olup, *L. bulgaricus* KLDS 1.0207’nin iki farklı patojene karşı antimikrobiyal, sitotoksik etkileri ve tolerans seviyelerinin incelendiği bir çalışmada *S. aureus* ile birlikte *L. bulgaricus* (2×10^8 kob/gün) alan grupta (T0: 19,42 g, T1: 19,55 g) yalnızca *S. aureus* (T0: 21,65 g, T1: 20,14 g) alan gruba kıyasla hafif bir vücut ağırlığı artışı olduğu, dolayısıyla vücut ağırlığı kaybından koruduğu öne sürülmüştür ($p>0,05$) (Evivie vd., 2020).

Mevcut çalışmada MSG’nin dişi sıçanlarda görülen vücut ağırlığı kazanımını artırmaya yönelik etkisi MSG alımı ile vücut ağırlığında artış arasında ilişki saptayan geçmiş çalışmalarla benzerlik göstermektedir. MSG’nin dişi ve erkek sıçanların vücut ağırlığı üzerindeki etkisi arasındaki bu farklılık, literatürde de kanıt birliği sağlanamamış olmasıyla da paraleldir. Ek olarak cinsiyet ile ilişkili olabilecek obezite faktörleri, dolayısıyla MSG’nin mikrobiyota üzerindeki ve dolayısıyla vücut ağırlığı artışı üzerinde farklı etkileri olabileceğini destekler niteliktedir. Bunun ötesinde erkeklerde onuncu haftada değişen ve vücut ağırlığı kazanımının azalması ile sonuçlanan etki de uzun süreli takip çalışmalarına olan ihtiyacın gerekliliğini destekler niteliktedir. Bu çalışmada görülen vücut ağırlığı kazanımını artırma etkisi paketli ürün tüketiminde riskli bir artış gösteren çocuk ve adolesanlarda MSG alımının yaratabileceği muhtemel halk sağlığı sorunlarının aydınlatılması için bir önveri teşkil etmektedir.

MSG ve vücut ağırlığı değişimi ilişkisi incelenirken epidemiyolojik çalışmaların yorumlanmasında dikkatli olunması gerekmektedir. Kesitsel çalışmalar MSG ve vücut ağırlığı değişimi arasında bir korelasyon gösterse dahi bu ilişkide bir nedensellik olduğu anlamına gelmeyecektir. Nedenselliği göstermemekle birlikte araştırmalardan tespit edilen ilişkiler bir nedensellik tahmininde bulunmayı sağlayabilir ve bu hipotezler yapılacak kontrollü müdahale çalışmaları ile incelenebilir (Brosnan et al., 2014). Beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite ve genel olarak yaşam tarzı faktörleri sonuçları etkileyebilmektedir. Ek olarak, halihazırda yüksek BKİ değerlerine sahip olan bireylerin MSG alımını artıracak beslenme alışkanlıklarına sahip olabileceği ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. MSG sıklıkla işlenmiş besinlerde bulunmaktadır ve bu besinlerin enerji içeriğinin yüksek besin ögesi içeriğinin düşük olduğu bilinmektedir. Kesitsel çalışmaların sonuçları alandaki randomize kontrollü veya uzunlamasına çalışmalar ile birlikte değerlendirilmelidir. MSG'nin insanlar üzerindeki ilgili etkilerini incelemek adına planlanacak çalışmaların etik zorlukları göz önünde bulundurulduğunda nedenselliğin incelenmesi için hayvan çalışmaları ön planda olmaya devam edecektir.

Çalışmada kontrol ve müdahale gruplarında yer alan sıçanların dışkı örneklerinin taksonomik kompozisyonu yeni nesil dizileme yöntemi ile belirlenmiş ve deney sonundaki değişimleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu dişi, MSG grubu erkek, LB grubu erkek ve MSG+LB grubu sıçanlarda *Firmicutes* başlangıçta baskın iken deney sonunda azalan *Firmicutes* bolluğu ile birlikte *Proteobacteria* baskın hale gelmiş; yalnızca MSG dişi grubunda *Firmicutes* baskın olarak kalmıştır. Erkek sıçan dışkı mikrobiyotasında deney sonu *Firmicutes* oranı başlangıça kıyasla incelendiğinde kontrol (%18,3; %25,1) ve MSG (%42,45; %46,4) gruplarında bir miktar artış olduğu; LB (%55,4; %22,5) ve MSG+LB (%53,8; %30,6) gruplarında ise azalma olduğu görülmüştür. Dişi sıçanlarda kontrol (%43,0; %20,1) ve MSG+LB (%44,9; %24,8) gruplarında *Firmicutes* oranı deney sonunda yaklaşık yarıya düşmüştür. MSG grubunda oran bir miktar artarken (%46,4; %50,4); LB grubunda belirgin bir değişim olmamıştır (%26,0; %25,9) (Şekil 3.4, Şekil 3.16). MSG ve MSG+LB grubunda yer alan dişi ve erkek sıçanların *Firmicutes* oranlarındaki değişimin benzer olduğu görülmektedir. Dişi sıçanlarda MSG alımının kontrol grubuna kıyasla dışkı mikrobiyotasında *Firmicutes* oranında artışı etkilediği, LB ile kombine alımda ise bu etkinin ortadan kalktığı görülmektedir.

Diyetin bağırsak mikrobiyotasını etkilediği bilinmektedir. Özellikle Batı tarzı diyetin mikrobiyota üzerindeki olumsuz etkileri geçmiş çalışmalarla gösterilmiştir (Banerjee vd., 2021). Giderek yaygınlığı artan Batı tarzı diyetin bileşenleri arasında yer alan gıda katkı

maddelerinden biri olan MSG'nin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini bildiren çalışma sayısı kısıtlıdır. Yapılan çalışmaların tasarımları ve incelenen parametreler de birbirinden farklılık göstermektedir. Sekiz hafta boyunca MSG (20 mg/ml) alan hamsterların fekal mikrobiyotasında *Bacteroidetes* (%55,99; %52,98) ve *Firmicutes* (%28,63; %22,71) oranlarının azaldığı bildirilmiştir (Pongking vd., 2020a). Dört ay süren bir insan çalışmasında MSG (2 g/gün) alımı kademeli olarak arttıkça filum düzeyinde *Firmicutes* içeriğinde hafif bir azalma olmuştur, ancak *Firmicutes* aynı zamanda tüm dışkı örneklerinde sürekli olarak baskın bakteri filum olarak izlenmeye devam etmiştir. Genel olarak, mikrobiyal içerik farklı örnekleme zaman noktalarında filum ve cins seviyelerinde hafif dalgalanma gösterse de, anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Peng vd., 2018). MSG ile müdahale edilen sıçanlarda *Firmicutes* bolluğunun daha yüksek, *Bacteroidetes* bolluğunun ise daha düşük olduğu gözlenmiştir (Nahok vd., 2021). Otuz gün boyunca yem ile %3 MSG alan domuzların kolondaki *Firmicutes* yüzdesinin arttığı ($p < 0,01$) bildirilmiştir (Feng vd., 2014).

Firmicutes bolluğundaki artış Feng vd. (2014) ve Nahok vd. (2021) tarafından gösterilen değişim ile benzer olup insan çalışması sonuçlarından farklı olduğu görülmektedir. Geçmiş çalışmalarda genç erkeklerde baskın bakteriler *Firmicutes* iken, yaşlılarda *Bacteroides* baskın hale gelmiştir (Meng vd., 2022). Mevcut çalışmada ilerleyen yaş ile birlikte kontrol grubu dışı sıçanlarda *Firmicutes*'in azalması bu değişim ile paraleldir. Her iki cinsiyette ise yaş ile beklenen değişimden farklı olarak *Firmicutes* bolluğunun artmış olması MSG'nin etkisini doğrular niteliktedir. MSG+LB alımında ise *Firmicutes* artışının görülmemesi *L. bulgaricus*'un MSG kaynaklı disbiyozu önleme konusundaki etkisine yönelik bir önveri teşkil etmektedir.

Diyabetli kişilerin bağırsak mikrobiyotasında, sağlıklı bireylere kıyasla *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* gibi bazı filumların daha fazla olduğu gösterilmiştir (Wang vd., 2012). Ek olarak, MSG tüketiminin çeşitli diyabet parametreleri ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Chevassus vd., 2002; Diniz vd., 2005; Luscombe-Marsh vd., 2008). Mevcut çalışmada gösterildiği üzere MSG alan grupta artmış *Firmicutes* oranının geçmiş çalışmalarda diyabetli kişilerin mikrobiyotalarındaki gösterilen artmış *Firmicutes* oranı ile olan benzerliği MSG'nin mikrobiyota üzerindeki etkileri ve ilişkili olduğu hastalıkların incelenmesi noktasında dikkate değer bir başlangıç noktasıdır. İlave olarak literatürde MSG'nin özellikle Asya topluluklarındaki vücut ağırlığı artışı üzerindeki etkisinin esas olarak beslenme dönüşüm kaynaklı olabileceği vurgulanmaktadır (Brosnan vd., 2014). Batı tarzı bir diyetten bağımsız olarak MSG'nin mikrobiyotada *Firmicutes*

bolluğunu etkilediğini gösteren mevcut çalışma verisi MSG'nin mikrobiyota üzerindeki etkileyen ileri çalışmaları teşvik etmektedir.

Erkek sıçanlarda *Bacteroidetes* oranı kontrol (%10,2; %3,3) ve MSG (%18,4; %14,1) grubunda deney sonunda başlangıca kıyasla azalma göstermiştir. LB (%2,6; %14,6) ve MSG+LB (%8,1; %13,4) gruplarında ise bir artış görülmüştür. Dişi sıçanlarda da kontrol (%18,9; %7,0) ve MSG (%15,2; %2,9) grubunda deney sonunda başlangıca göre belirgin şekilde azalırken, MSG+LB (%8,5; %7,6) grubunda bir miktar azalma gözlenmiştir. LB grubunda ise oran bir miktar artmıştır (%5,1; %8,3) (Şekil 3.4, Şekil 3.16). Erkek sıçanlarda *Actinobacteria* kontrol (%4,2; %1,9), MSG (%7,1; %0,9) ve MSG+LB (%3,7; %1,6) gruplarında azalmış; LB grubunda ise (%1,2; %1,4) başlangıçtaki nispi çokluğa yakın izlenmiştir. Dişi sıçanlarda kontrol (%7,2; %2,6), MSG (%7,9; %6,5) ve MSG+LB (%11,4; %2,7) gruplarında azalmış, LB grubunda (%1,4; %2,9) bir miktar artış göstermiştir. Dişi ve erkek sıçanlar arasında *Actinobacteria* değişimi LB grubu hariç benzer seyretmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.16). Artmış *Actinobacteria* ve azalmış *Bacteroidetes* seviyeleri hipertansiyon, hiperlipidemi ve tip 2 DM ile; azalmış *Firmicutes*, *Actinobacteria* ve *Bacteroidetes* ile artmış *Proteobacteria* ve *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı irritabl bağırsak sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Rinninella vd., 2019; Takagi vd., 2020).

Dişi ve erkek sıçanlar için kontrol, MSG ve gruplarında *Bacteroidetes* oranındaki değişim eğilimlerinin benzer olduğu görülmektedir. MSG alımının dişi sıçanlarda kontrole kıyasla daha belirgin şekilde dışkı mikrobiyotası *Bacteroidetes* oranında bir azalma etkisi gösterdiği, LB alımının ise aksine artış etkisi olduğu tespit edilmiştir. Kombine alımlarının etkisi ise iki cinsiyet arasında farklılık göstermiştir. Sekiz hafta boyunca MSG alan hamsterların fekal mikrobiyotasında *Bacteroidetes* (%55,99; %52,98) ve *Firmicutes* (%28,63; %22,71) oranlarının azaldığı bildirilmiştir (Pongking vd., 2020). Dişi sıçanlarda görülen *Bacteroidetes* oranında azalma eğilimi bu sonuç ile paraleldir. LB ve MSG+LB gruplarında görülen *Bacteroidetes* oranında artış ile *L. bulgaricus*'un MSG'nin mikrobiyota üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini sağaltmaya yönelik umut vadetmektedir.

Bir müdahale çalışmasında, MSG verilen sıçanlarda *Actinobacteria* bolluğu (%0,30) kontrol sıçanlarına (%1,32) göre anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur (Nahok vd., 2021). İnsanlarda yürütülen başka bir çalışmada ise MSG tüketimi ile *Actinobacteria* varlığında hafif bir artış gösterilmiştir (Peng vd., 2018). Domuzlarda arjinin ve glutamik asit ilavesi sonucunda bağırsak mikrobiyotasında *Actinobacteria* göreceli bolluğunun (%1,61) kontrol grubuna

(%0,38) kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Ek olarak, arjinin ve glutamik asit alan grupta, kontrol grubuna göre vücut yağ ağırlığını azaltmıştır ($p<0,05$) (Hu vd., 2017).

Mevcut çalışmada, MSG grubu erkek sıçanlarda *Actinobacteria* bolluğu kontrol grubuna göre daha belirgin bir azalma gözlenmiştir. Bu değişimin Nahok vd. (2021) tarafından bildirilen sonuçlar ile paralel olduğu görülmektedir. MSG'nin bağırsak mikrobiyotasındaki *Actinobacteria* bolluğu üzerindeki etkisinin netleştirilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. MSG gruplarında kontrole kıyasla vücut ağırlığının oransal artış eğilimi ile MSG gruplarında azalmış *Actinobacteria* oranı ilişkisi; literatürde obezite ve Batı diyeti ile ilişkili olduğu gösterilen artmış *Actinobacteria* oranı ilişkisinden farklılaşmaktadır. İBS'de bildirilen *Actinobacteria* bolluğunda azalış ile bu hastalarda bildirilen MSG hassasiyetinin ileri incelemeleri ise MSG'nin bu hastalardaki mekanistik etkilerinin yanı sıra mikrobiyota üzerindeki etkilerinden kaynaklı olarak semptomları tetikleme ihtimaline açıklık getirecektir.

Bu çalışmada erkek sıçanların fekal mikrobiyotalarında en yaygın olarak görülen filumlardan *Proteobacteria* kontrol grubunda deney sonunda başlangıça kıyasla belirgin bir değişim göstermemiştir (%65,7; %68,1). MSG grubunda bir miktar artış (%27,5; %31,8), LB (%39,2; %58,6) ve MSG+LB gruplarında (%31,6; %50,1) ise daha belirgin bir artış görülmüştür. Dişi sıçanlarda kontrol grubunda deney sonunda iki katı orana ulaşmıştır (%29,0; %66,0), başlangıç değeri kontrol grubuna yakın olan MSG grubunda ise daha düşük oranda bir artış görülmüştür (%28,0; %39,2). LB grubunda belirgin bir değişim görülmezken, MSG+LB grubunda kontrol grubuna benzer şekilde oran iki katına ulaşmıştır (%33,5; %63,5). MSG ve MSG+LB gruplarındaki dişi ve erkek sıçanlardaki değişimin diğer gruplara kıyasla birbirine daha benzer olduğu görülmektedir. Dişi sıçanlarda MSG alımının *Proteobacteria* artış eğilimini azalttığı, LB ile kombine alımında ise bu etkisinin ortadan kalktığı söylenebilmektedir. Erkek sıçanlarda ise kontrol grubuna kıyasla MSG alan grupta *Proteobacteria* bolluğu üzerinde artış etkisi görülmüştür. Bu etki özellikle T8'e kadar kademeli olarak artış göstermiş, deney sonunda azalmakla birlikte başlangıç seviyesinin üstünde kalmıştır (Şekil 3.4, Şekil 3.16).

Metabolik hastalıklarda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında değişiklik olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak disbiyozis durumunda *Proteobacteria* oranında da bir artış olmaktadır (Shin vd., 2015). Bağırsakta kommensal olarak bulunan *Proteobacteria* üyeleri, bağırsak inflamasyonunu tetikleyecek önemli patojenik potansiyel barındıran *Enterobacteriaceae* (örn. *Enterobacter* türleri) gibi bir dizi fırsatçı patojeni içerir (Li vd.,

2020). Geçmiş çalışmalarda obez ve diyabet hayvan modelleri ile obeziteye sahip ve tip 2 DM bireylerde yapılan çalışmalarda kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek *Proteobacteria* bolluğu rapor edilmiştir (Shin vd., 2015). Fare, sıçan, primat ve insan bağırsak mikrobiyotasının taksonomik dağılımlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada *Proteobacteria* sıçanlarda en yüksek bollukta görülmüştür (Nagpal vd., 2018). Farelere düşük, orta ve yüksek doz (30, 300 ve 1500 mg/kg) MSG verilen bir çalışmada yüksek doz MSG alan grupta çekum *Proteobacteria* seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla azalmış olduğu, orta doz MSG alan grupta ise arttığı gösterilmiştir (Xu vd., 2022). İnsanlarda dört hafta boyunca 2 g/gün MSG alımı ile birlikte fekal mikrobiyotalarında *Proteobacteria* oranının arttığı gösterilmiştir (T1: %2,1157; T2: %6,2435; T3: %10,1156; T4: %8,0759; $p>0,005$). Bu doğrultuda, MSG alan dişi sıçanların *Proteobacteria* bolluklarında görülen değişimin literatürden farklılaştığını söylemek mümkündür. Literatür doğrultusunda artan *Proteobacteria* bolluğunun disbiyozis ve artmış hastalık riskleri ile ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda, ADI düzeyinde MSG tüketiminin bu çalışmada *Proteobacteria* artış eğilimini kontrol grubuna kıyasla azaltması MSG lehine ilgi çekici bir sonuç teşkil etmektedir. Dişi ve erkek sıçan mikrobiyotalarında görülen *Proteobacteria* değişimi farkı ise mikrobiyota çalışmalarında cinsiyet etkisinin göz önünde bulundurulması gerekliliğini vurgulamaktadır.

Mikrobiyotada görülen değişiklikler aslında belirli değişim noktalarını (tipping points) temsil ediyor olabilir ve mikrobiyota konak host kontrolü ile alternatif bir sağlıklı duruma kavuşabilir (Fassarella vd., 2021). Örneğin bu çalışmada erkek sıçanlarda vücut ağırlığındaki oransal değişimdeki artış onuncu haftadan (T4) sonra eğilim değiştirmiş ve azalma göstermiş; benzer şekilde *Proteobacteria* bolluğundaki artış da on dördüncü haftaya (T8) kadar artış gösterirken deney sonunda azalma eğilimine geçmiştir. Diyetin ve bileşenlerinin mikrobiyota üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmaların uzun süreli olarak planlanması konak kontrolü ile sağlanacak bu değişimlerin açık bir şekilde görülmesi açısından önemlidir.

Çalışmadan elde edilen bir diğer veri dışkı mikrobiyotası çeşitliliğidir. Bu çalışmada kontrol grubunda yer alan sıçanların mikrobiyota alfa çeşitliliğinin deney sonunda belirgin değişiklik göstermediği, MSG ile MSG+LB grubunda yer alan sıçanlarda deney sonunda azaldığı, LB grubunda ise çeşitliliğin arttığı, bu farklılıkların kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu gözlenmiştir (MSG+LB grubunda yer alan sıçanlar için T4 ve T8 hariç). Müdahale gruplarında T0 ve T12 arasındaki değişimin anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$) (Çizelge 3.1). Mikrobiyota çeşitliliğinin azalması bağırsak disbiyozunun en sabit bulgusu

olarak karşımıza çıkmaktadır (Jakobsson vd., 2014). Bağırsak mikrobiyotasında azalan çeşitlilik Crohn hastalığı, ülseratif kolit, tip 1 DM, çölyak, alerjiler gibi çeşitli bağışıklık sistemi hastalıklarıyla; obezite gibi metabolik hastalıklarla; kolorektal kanser, iritabl bağırsak sendromu, tekrarlayan *Clostridium difficile* enfeksiyonu, otizm, nekrotizan enterekolit, graft versus host hastalığı gibi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Mosca vd., 2016).

MSG alımının (2 g/gün) insan dışkı mikrobiyotası üzerindeki etkilerini inceleyen dört ay süreli bir çalışmada grupların Shannon çeşitlilik indeksi değerleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, dolayısıyla grupların alfa çeşitliliklerinin benzer olduğu bildirilmiştir (Peng vd., 2018; Pongking vd., 2020) da sekiz hafta boyunca MSG (20 mg/ml içme suyu) alan hamsterlarda alfa çeşitlilikte değişim görülmediğini bulmuştur. Beş haftalık farelerde 4 hafta boyunca 30, 300 ve 1500 mg/kg MSG alımı, kontrol grubuna kıyasla çekal mikrobiyotada daha yüksek alfa çeşitlilik ile sonuçlanmıştır (Xu vd., 2022). Büyümekte olan domuzlarda yüksek yağlı diyet jejunumdaki mikrobiyal çeşitliliği artırmış ve bu diyetle MSG eklendiğinde bu etki ortadan kalkmıştır. İleumdaki çeşitlilik incelendiğinde ise hem yüksek yağlı diyetin hem de MSG'nin çeşitliliği azalttığı görülmüştür. Çekum mikrobiyotasında ise hem yüksek yağlı diyet hem de MSG çeşitliliği artırmıştır. Kolon mikrobiyotasında yüksek yağlı diyet ve MSG ayrı olarak verildiğinde çeşitlilikte artış görülürken, kombine olarak verildiğinde antagonistik etki göstermiştir. MSG'nin mikrobiyal çeşitliliği artırdığını gösteren literatürden ayrılan bu sonuçlar kullanılan modelden veya diyetle alınan yağ veya MSG'nin bağırsaktaki enerji ve amino asit tedarikini artırması ve dolayısıyla bu da mikrobiyal büyümeyi ve çoğalmayı teşvik etmesinden kaynaklanmış olabilir (Feng vd., 2014). Domuzlarda probiyotik alımının ileum mikrobiyotası ve sirkadyen ritim üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada diyetle alınan *L. bulgaricus*'un 16 Zeitgeber zaman noktasında (00:00) ileal bakteriyel alfa çeşitliliğini artırdığını ve kontrol domuzlarına kıyasla Simpson indeksinin arttığını göstermiştir (Luo vd., 2024).

Bu doğrultuda, mevcut çalışma literatürden farklı olarak MSG'nin dışkı mikrobiyotasındaki çeşitliliği azalttığını göstermektedir. Tek başına *L. bulgaricus* alımı ise çeşitliliği artırmış olmakla birlikte, MSG ile kombine alımında MSG'nin çeşitlilik üzerindeki etkisini sağaltmamıştır. Bağırsak mikrobiyotasında çeşitliliğin azalması pek çok kronik hastalık ile ilişki olduğu göz önünde bulundurulduğunda MSG'nin çeşitlilik üzerindeki etkisinin netleştirilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışma sonucunda biyoinformatik analiz ile sıçanların dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları belirlenmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu erkek sıçanlarda deney sonunda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı artmış (1,79; 7,67), MSG grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük bir oranda olmakla birlikte yine artış görülmüştür (2,30; 3,28). LB (20,02; 1,54) ve MSG+LB (6,66; 2,29) gruplarında deney sonunda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı azalırken, LB grubunda azalma miktarının daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubu dişi sıçanlarda deney sonunda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında bir miktar artış görülmüş (2,27; 2,98), MSG (3,06; 17,09) grubunda kontrole göre daha belirgin bir artış izlenmiştir. LB (5,12; 3,12) ve MSG+LB (5,28; 3,27) gruplarında ise erkek sıçanlarda olduğu gibi azalma gözlenmiştir (Çizelge 3.2) .

Sağlıklı mikrobiyota ve disbiyozisin karakterizasyonunda henüz ortak bir görüş belirlenmemiş olsa da *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki değişimlerin çeşitli patolojilerin bir göstergesi olabileceğine dair kanıtların sayısı da artmaktadır (Yang vd., 2015). Düşük *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının zayıf fenotipler, genç yaş, kardiyovasküler sağlık ve dengeli bir bağışıklık sistemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur ve genellikle sağlık için olumlu olduğu düşünülmektedir (Grigor'eva, 2020). Yüksek bir *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ise obezite, artmış adipozite ve ilgili sorunların olası bir belirtisi olarak tartışılmaktadır (Duncan vd., 2008; Eckburg vd., 2005; Kalliomäki vd., 2008; Ley vd., 2006; Nadal vd., 2009; Wang vd., 2012). Azalan *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ise vücut ağırlığında azalma ile ilişkilidir (Mariat vd., 2009b). Mikrobiyota çalışmalarında sıklıkla kullanılan sıçan ve farelerin dışkı ve bağırsak içeriklerinde bulunan *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* gibi ana bakteri grupları insanlar ile benzer olup bu modelin kullanımını desteklemektedir (Heinritz vd., 2013). Sıçanlarda yaşla birlikte *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının arttığı belirtilmiştir (Meng vd., 2022).

Yüksek yağlı diyetler ve MSG'nin hamsterlar üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sekiz ay boyunca içme suyuna ilave 20 mg/ml MSG tüketen grubun deney sonunda dışkı *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı (0,429) kontrol grubunun (0,511) altında kalmıştır (Pongking vd., 2020). Bir ay boyunca farklı dozlarda (30, 300 veya 1500 mg/kg) MSG alımının fare çekum mikrobiyotasında *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını etkilemediği bildirilmiştir (Xu vd., 2022). Yem ile birlikte tek başına verildiğinde %3 oranındaki MSG'nin domuz mikrobiyota kompozisyonu üzerinde belirgin bir etkisi gözlemlenmemiştir. Tek başına verilen diyet yağı veya MSG kolondaki *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı üzerinde bir etki göstermezken ikisi birlikte verildiğinde oran artmıştır (Z.-M. Feng vd., 2015).

Kontrol ve müdahale gruplarında yer alan erkek ve dişi sıçanların dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki artma ve azalma eğilimlerinin benzer olduğu görülmektedir. Kontrol gruplarında *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı artarken, erkeklerde dişilere kıyasla artış bir miktar daha fazla olmuştur. MSG grubunda her iki cinsiyette de artış görülmüş, dişilerde ise artışın miktarı erkeklere göre daha fazla olmuştur. LB grubunda her iki cinsiyet için de azalma eğilimi görülürken azalmanın erkeklerde daha yüksek miktarda olduğu görülmüştür. MSG+LB grubunda ise hem erkek hem dişiler için benzer miktarda azalma gözlenmiştir. Bu çalışmada yer alan sıçanların vücut ağırlığındaki oransal değişim ve *Firmicutes/Bacteroidetes* oranları birlikte değerlendirilecek olursa MSG grubundaki kontrol grubuna kıyasla ağırlık artış eğiliminin (erkek sıçanlar için 10. haftaya kadar) dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki artış ile paralel; LB ile MSG+LB grubundaki azalma veya kontrol grubu ile benzer seyrin *Firmicutes/Bacteroidetes* oranındaki azalma ile paralel olduğu görülebilir. Bu veriler *Firmicutes/Bacteroides* oranında artış ile vücut ağırlığı kazanımının artışı ve MSG'nin vücut ağırlığı üzerindeki muhtemel etkisini gösteren çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Ek olarak, MSG+LB grubunda yer alan sıçanlarda MSG'nin yarattığı ağırlık artışı etkisinin ortadan kalkması ve *Firmicutes/Bacteroidetes* oranlarının da azalmış olması *L. bulgaricus*'un MSG'nin mikrobiyota üzerinde yarattığı olumsuz değişimleri düzenleyebileceğine dair bir veri teşkil etmektedir. Çalışmada verilen MSG dozu ADI düzeyinde olup, benzer çalışmalarda dozlardan büyük kısmının altında bir miktardır. Buna rağmen vücut ağırlığı artışı üzerindeki potansiyel bir etki görülmesi ADI düzeyinde yapılacak yeni çalışmaların ihtiyacını göstermekte ve EFSA'nın besinlerde kullanımına izin verilen maksimum limitlerin gözden geçirilmesi kararını desteklemektedir.

MSG ve *L. bulgaricus*'un dışkı mikrobiyotası üzerinde etkilerini gösteren bu çalışmanın güçlü yanları ve sınırlılıkları mevcuttur. Uzun süreli bir müdahale çalışması olması, vücut ağırlığının haftalık olarak takibinin yapılması ve farklı zaman noktalarında toplanan dışkı örneklerinin analiz edilmesi çalışmanın güçlü yanlarıdır. Çalışmanın sınırlılıkları arasında ise müdahale aracı olarak içme suyunun kullanılması, her deney grubundan bir dişi ve bir erkek olmak üzere yalnızca iki sıçanın dışkı örneklerinin analiz edilebilmesi ve mikrobiyota değişimi ile ilişkilendirilebilecek yalnızca bir parametrenin (vücut ağırlığı) incelenmesi sayılabilir. MSG ve *L. bulgaricus* müdahale gruplarındaki sıçanların içme sularına ilave edilerek verilmiştir. MSG dozu sıçanların haftalık su tüketimi ortalamalarına göre belirlenmesine rağmen tüketimlerinin tam olarak kontrolü mümkün olmadığı için 30 mg/kg olarak hedeflenen MSG dozu çalışma boyunca ortalama 27,51 mg/kg

olup bu değerin bir miktar altında kalmıştır. Diyet, mikrobiyota üzerindeki etkisini konak fizyolojisini de düzenleyerek göstermektedir. Bu alışmada MSG ve *L. bulgaricus*'un etki edebileceği farklı fizyolojik parametreler bütçe kısıtlılığı nedeniyle incelenememiştir. Dolayısıyla ileri çalışmalarda, mikrobiyota değişimini incelemenin yanı sıra konak fizyolojisi üzerindeki değişimler de araştırılmalıdır (Lee vd., 2022). Bununla birlikte, mikrobiyota üzerinde meydana gelen değişikliklerden yola çıkılarak ileri çalışmalarda incelenecek ilişkili konaki fizyolojisi parametrelerinin belirlenmesi için bir rota oluşturulmuştur.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Monosodyum glutamat ve *L. bulgaricus*'un yalın ve kombine alımlarının yavru sıçan dışkı mikrobiyotası üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

- Erkek sıçanlarda, on iki hafta boyunca *L. bulgaricus* tüketimi vücut ağırlığı kazanımını azaltmıştır ($p<0,001$).
- Dişi sıçanlarda, on iki hafta boyunca MSG tüketimi vücut ağırlığı kazanımını artırmıştır ($p<0,5$).
- Erkek ve dişi sıçanların dışkı mikrobiyotasında tüm taksonomik düzeylerde değişimler gözlenmiş olup, meydana gelen başlıca değişimler Çizelge 5.1'de özetlenmiştir.
- Deney sonunda erkek sıçanların alfa çeşitlilik indeksi kontrol grubunda belirgin değişiklik göstermemiş ($p>0,05$), MSG grubunda azalmış ($p<0,001$), LB grubunda artmış ($p<0,001$), MSG+LB grubunda azalmıştır ($p<0,001$).
- Deney sonunda dişi sıçanların alfa çeşitlilik indeksi kontrol ($p<0,001$), MSG ($p<0,001$) ve MSG+LB grubunda ($p<0,001$) azalmış, LB grubunda artmıştır ($p<0,001$).
- T0 LB grubu erkek sıçan, T4 ve T8 MSG+LB grubu erkek sıçan, T0 MSG grubu dişi sıçan değerleri haricinde, müdahale gruplarının tüm zaman noktalarındaki alfa çeşitlilik değerleri kontrol grubu değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
- Erkek sıçanların dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı kontrol ve MSG grubunda artmış, LB ve MSG+LB grubunda azalmıştır.
- Dişi sıçanların dışkı mikrobiyotası *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı kontrol grubunda bir miktar artmış, MSG grubunda artmış, LB ve MSG+LB grubunda azalmıştır.

Çizelge 5.1. Kontrol ve deney gruplarında yer alan erkek ve dişi sıçanların deney süresince bağırsak mikrobiyotalarında meydana gelen başlıca değişimler

Takson	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB
<i>Erkek</i>				
Familya	<i>Proteobacteria</i> +	<i>Proteobacteria</i> +	<i>Proteobacteria</i> ++	<i>Proteobacteria</i> ++
Sınıf	<i>Gammaproteobacteria</i> -	<i>Gammaproteobacteria</i> +	<i>Gammaproteobacteria</i> ++	<i>Gammaproteobacteria</i> ++
Takım	<i>Enterobacteriales</i> -	<i>Enterobacteriales</i> +	<i>Enterobacteriales</i> ++	<i>Enterobacteriales</i> ++
Cins	<i>Serratia entomophila</i> +	<i>Serratia entomophila</i> ~	<i>Serratia entomophila</i> +	<i>Serratia entomophila</i> +
Familya	<i>Enterobacteriaceae</i> -	<i>Enterobacteriaceae</i> +	<i>Enterobacteriaceae</i> +++	<i>Enterobacteriaceae</i> ++
Tür	<i>Escherichia</i> -	<i>Escherichia</i> +	<i>Escherichia</i> ++	<i>Escherichia</i> +
Cins	<i>Escherichia albertii</i> -	<i>Escherichia albertii</i> +	<i>Escherichia albertii</i> +	<i>Escherichia albertii</i> +
Familya	<i>Firmicutes</i> +	<i>Firmicutes</i> +	<i>Firmicutes</i> ---	<i>Firmicutes</i> --
Sınıf	<i>Clostridia</i> +	<i>Clostridia</i> +	<i>Clostridia</i> +	<i>Clostridia</i> ++
Takım	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> -
Familya	<i>Lachnospiraceae</i> +	<i>Lachnospiraceae</i> ++	<i>Lachnospiraceae</i> -	<i>Lachnospiraceae</i> -
Tür	<i>Blautia</i> +	<i>Blautia</i> ++	<i>Blautia</i> ~	<i>Blautia</i> --
Cins	<i>Blautia coccoides</i> +	<i>Blautia coccoides</i> +	<i>Blautia coccoides</i> ~	<i>Blautia coccoides</i> -
Familya	<i>Clostridiaceae</i> ~	<i>Clostridiaceae</i> -	<i>Clostridiaceae</i> -	<i>Clostridiaceae</i> -
Tür	<i>Clostridium</i> ~	<i>Clostridium</i> +	<i>Clostridium</i> +	<i>Clostridium</i> -
Sınıf	<i>Bacilli</i> +	<i>Bacilli</i> -	<i>Bacilli</i> ---	<i>Bacilli</i> -
Takım	<i>Lactobacillales</i> -	<i>Lactobacillales</i> -	<i>Lactobacillales</i> -	<i>Lactobacillales</i> -
Familya	<i>Lactobacillaceae</i> -	<i>Lactobacillaceae</i> -	<i>Lactobacillaceae</i> -	<i>Lactobacillaceae</i> -
Tür	<i>Lactobacillus</i> -	<i>Lactobacillus</i> -	<i>Lactobacillus</i> -	<i>Lactobacillus</i> --
Takım	<i>Bacillales</i> +	<i>Bacillales</i> -	<i>Bacillales</i> ---	<i>Bacillales</i> -
Tür	<i>Allobaculum</i> -	<i>Allobaculum</i> +	<i>Allobaculum</i> -	<i>Allobaculum</i> -

Çizelge 5.1. Devam

Takson	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB
<i>Erkek</i>				
Cins	<i>Allobaculum stercoricanis</i> +	<i>Allobaculum stercoricanis</i> +	<i>Allobaculum stercoricanis</i> -	<i>Allobaculum stercoricanis</i> -
Cins	<i>Veillonella criceti</i> +	<i>Veillonella criceti</i> -	<i>Veillonella criceti</i> +	<i>Veillonella criceti</i> +
Familya	<i>Bacteroidetes</i> -	<i>Bacteroidetes</i> -	<i>Bacteroidetes</i> +	<i>Bacteroidetes</i> +
Sınıf	<i>Bacteroidia</i> -	<i>Bacteroidia</i> ~	<i>Bacteroidia</i> ++	<i>Bacteroidia</i> +
Takım	<i>Bacteroidales</i> -	<i>Bacteroidales</i> ~	<i>Bacteroidales</i> ++	<i>Bacteroidales</i> +
Familya	<i>Bacteroidaceae</i> -	<i>Bacteroidaceae</i> +	<i>Bacteroidaceae</i> +	<i>Bacteroidaceae</i> +
Tür	<i>Bacteroides</i> -	<i>Bacteroides</i> +	<i>Bacteroides</i> +	<i>Bacteroides</i> +
Familya	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> +	<i>Actinobacteria</i> -
Sınıf	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> +	<i>Actinobacteria</i> ~
Cins	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -	<i>Bifidobacterium choerinum</i> ~	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -
<i>Dişi</i>				
Familya	<i>Proteobacteria</i> +++	<i>Proteobacteria</i> +	<i>Proteobacteria</i> -	<i>Proteobacteria</i> +++
Sınıf	<i>Gammaproteobacteria</i> +++	<i>Gammaproteobacteria</i> +	<i>Gammaproteobacteria</i> -	<i>Gammaproteobacteria</i> +++
Takım	<i>Enterobacteriales</i> +++	<i>Enterobacteriales</i> -	<i>Enterobacteriales</i> -	<i>Enterobacteriales</i> +++
Cins	<i>Serratia entomophila</i> +	<i>Serratia entomophila</i> ~	<i>Serratia entomophila</i> +	<i>Serratia entomophila</i> +
Familya	<i>Enterobacteriaceae</i> +++	<i>Enterobacteriaceae</i> +	<i>Enterobacteriaceae</i> -	<i>Enterobacteriaceae</i> +++
Tür	<i>Escherichia</i> ++	<i>Escherichia</i> +	<i>Escherichia</i> -	<i>Escherichia</i> ++
Cins	<i>Escherichia albertii</i> +++	<i>Escherichia albertii</i> +	<i>Escherichia albertii</i> -	<i>Escherichia albertii</i> ++
Familya	<i>Firmicutes</i> --	<i>Firmicutes</i> +	<i>Firmicutes</i> ~	<i>Firmicutes</i> --
Sınıf	<i>Clostridia</i> +	<i>Clostridia</i> +	<i>Clostridia</i> ~	<i>Clostridia</i> +
Takım	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> +	<i>Clostridiales</i> +

Çizelge 5.1. Devam

Takson	Kontrol	MSG	LB	MSG+LB
	<i>Dişi</i>			
Familya	<i>Lachnospiraceae</i> +	<i>Lachnospiraceae</i> -	<i>Lachnospiraceae</i> -	<i>Lachnospiraceae</i> +
Tür	<i>Blautia</i> +	<i>Blautia</i> +	<i>Blautia</i> -	<i>Blautia</i> +
Cins	<i>Blautia coccooides</i> +	<i>Blautia coccooides</i> +	<i>Blautia coccooides</i> -	<i>Blautia coccooides</i> +
Familya	<i>Clostridiaceae</i> -	<i>Clostridiaceae</i> -	<i>Clostridiaceae</i> -	<i>Clostridiaceae</i> -
Tür	<i>Clostridium</i> +	<i>Clostridium</i> -	<i>Clostridium</i> +	<i>Clostridium</i> +
Sınıf	<i>Bacilli</i> --	<i>Bacilli</i> +	<i>Bacilli</i> +	<i>Bacilli</i> ---
Takım	<i>Lactobacillales</i> --	<i>Lactobacillales</i> -	<i>Lactobacillales</i> +	<i>Lactobacillales</i> ---
Familya	<i>Lactobacillaceae</i> --	<i>Lactobacillaceae</i> -	<i>Lactobacillaceae</i> ~	<i>Lactobacillaceae</i> --
Tür	<i>Lactobacillus</i> -	<i>Lactobacillus</i> -	<i>Lactobacillus</i> ~	<i>Lactobacillus</i> --
Takım	<i>Bacillales</i> -	<i>Bacillales</i> +	<i>Bacillales</i> -	<i>Bacillales</i> -
Tür	<i>Allobaculum</i> -	<i>Allobaculum</i> -	<i>Allobaculum</i> +	<i>Allobaculum</i> +
Cins	<i>Allobaculum stercoricanis</i> -	<i>Allobaculum stercoricanis</i> -	<i>Allobaculum stercoricanis</i> ~	<i>Allobaculum stercoricanis</i> +
Cins	<i>Veillonella criceti</i> +	<i>Veillonella criceti</i> ++	<i>Veillonella criceti</i> +	<i>Veillonella criceti</i> +
Familya	<i>Bacteroidetes</i> -	<i>Bacteroidetes</i> -	<i>Bacteroidetes</i> +	<i>Bacteroidetes</i> -
Sınıf	<i>Bacteroidia</i> -	<i>Bacteroidia</i> -	<i>Bacteroidia</i> +	<i>Bacteroidia</i> +
Takım	<i>Bacteroidales</i> -	<i>Bacteroidales</i> -	<i>Bacteroidales</i> +	<i>Bacteroidales</i> +
Familya	<i>Bacteroidaceae</i> -	<i>Bacteroidaceae</i> -	<i>Bacteroidaceae</i> +	<i>Bacteroidaceae</i> +
Tür	<i>Bacteroides</i> -	<i>Bacteroides</i> -	<i>Bacteroides</i> +	<i>Bacteroides</i> +
Familya	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> +	<i>Actinobacteria</i> -
Sınıf	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> -	<i>Actinobacteria</i> +	<i>Actinobacteria</i> -
Cins	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -	<i>Bifidobacterium choerinum</i> ~	<i>Bifidobacterium choerinum</i> -

F: Filum, S: Sınıf, Tk: Takım, F: Familya, Tr: Tür, C: Cins; Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişim oranı; %0,5-15: +/-, %16-29: ++/--; >%30: +++/---

Bu sonuçlar doğrultusunda;

Monosodyum glutamat dünya gıda otoritelerince kullanımı güvenli bulunan bir gıda katkı maddesi olup EFSA tarafından bir ADI düzeyi ile besinlerde kullanılacak maksimum limitleri belirlemiştir. Monosodyum glutamata yönelik yeniden değerlendirme çalışması sonucunda ADI değeri 30 mg/kg olarak tekrar belirlenmiş ve toplumun belirli kesimlerinin MSG kullanımının ADI düzeyinin üzerinde olduğu, sık tüketilen MSG kaynağı besinler için maksimum kullanım limitlerinin gözden geçirilmesi gerekliliği vurgulanmıştır. Geçmiş çalışmalar çoğunlukla risk değerlendirmesine yönelik olup yüksek dozda MSG alımlarının sağlık üzerindeki etkilerini incelemiştir. Gıda katkı maddelerine yönelik risk değerlendirmelerine yönelik olarak EFSA, mikrobiyota üzerindeki etkilerinin de dahil edilmesi adına bu tür çalışmalara yönelik çağrıda bulunmuştur. Monosodyum glutamat içeren işlenmiş ürünler ve fast food niteliğindeki besinler Batı tarzı diyetin bir parçasıdır. Dünya genelinde Batı tarzı beslenmenin artış gösterdiği, çocuk ve adolesanların da bu artıştan etkilenen hassas bir grup oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla bu yaş gruplara spesifik olarak gıda katkı maddelerinin etkilerinin incelenmesi önemlidir. Diğer yandan fermente besinler yüzyıllardır insan diyetinin bir parçasıdır. Yoğurt üretimi için gerekli iki standart bakteri suşundan biri olan *L. bulgaricus* pek çok fermente besinde bulunmakta olup, yapılan çalışmalar probiyotik potansiyelini göstermiştir.

Bu çalışmada MSG alımının dişi sıçanlarda vücut ağırlığı kazanımını artırabileceği, *L. bulgaricus* ile kombine alımında ise bu etkinin ortadan kalkabileceğine yönelik veriler elde edilmiştir. Erkek sıçanlarda ise MSG alımı ile deney sonunda vücut ağırlığı kazanımında azalma görülmüş; *L. bulgaricus* alımının vücut ağırlığı kazanımını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı bulunmuştur. Çocukluk ve adolesan dönemde normal vücut ağırlığı kazanımı önemli olmakla birlikte, MSG içeren yiyeceklerin fazla tüketilmesi sonucu gelişebilecek obezite ve ilişkili hastalıkların önlenmesinde *L. bulgaricus*'un bu potansiyel etkisinin incelenmesi faydalı olacaktır. Bu çalışmada; MSG grubunda *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* bolluğu; alfa çeşitlilik ile *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında meydana gelen değişimlerin metabolik hastalıklarda görülen disbiyozis tablosuna benzer olduğu görülmüştür. *L. bulgaricus* grubunda ise *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* bolluğu ile *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında görülen etkiler bu değişimlerin sağaltımını sağlayabileceğine dair önveri sağlamaktadır. Çalışmada incelenen belirli parametrelerde cinsiyetler arasında fark görülmesi gıda katkı maddelerinin mikrobiyota dahil olmak üzere sağlık üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda her iki cinsiyetin de dahil edilmesi gerektiğini bir kez daha ortaya

koymaktadır. ADI düzeyinde MSG verilen bu çalışmada dahi mikrobiyota üzerinde olumsuz etkiler görülmüş olması endişe verici olup EFSA'nın belirli besinlerde izin verilen maksimum kullanım limitlerinin gözden geçirilmesi kararını desteklemektedir. Ek olarak, MSG'nin sağlık üzerinde olumlu etkileri olabileceğini gösteren çalışmalardan yola çıkılarak tuza alternatif olarak kullanılması ve belirli mikro besin ögeleri için taşıyıcı besin olarak kullanılması yöntemleri MSG'nin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri tamamen bertaraf edilinceye kadar gözden geçirilmelidir. Toplumun MSG tüketimine dair verilerin büyük çoğunluğu geçmiş tarihli olup dünya çapında Batı tarzı diyet ile birlikte gıda katkı maddesi tüketimi hızla artmaktadır. Bu doğrultuda tüm yaş grupları için MSG tüketim miktarlarının güncellenmesi gerekmektedir. Güncellenmiş tüketim verileri MSG'nin sağlık üzerindeki etkilerini inceleyecek çalışmalarda doz tespiti için veri sağlayacaktır. Hayvan çalışmalarının sonuçlarının insanlar için yorumlanması güçtür. Yorumlanmasını kolaylaştırmak adına gelecek çalışmalarda MSG dozu ve veriliş yolunun insan tüketimine uygun seçilmesi önemlidir. İnsan verilerinin artırılması adına halihazırda MSG tüketimi olan bireylerin dahil edildiği gözlemsel çalışmaların artırılması da oldukça elzemdir.

KAYNAKLAR

- Abdel Baky, N. A., Mohamed, A. M., & Faddah, L. M. (2009). Protective effect of N-acetyl cysteine and/or pro vitamin A against monosodium glutamate-induced cardiopathy in rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(5), 178-193. <https://doi.org/10.3923/JPT.2009.178.193>
- Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., & Jafarin-Dehkordi, A. (2013). In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 260. [/pmc/articles/PMC3757591/](https://doi.org/10.3389/FNINS.2021.636454)
- Ahanger, I. A., Bashir, S., Parray, Z. A., Alajmi, M. F., Hussain, A., Ahmad, F., Hassan, M. I., Islam, A., & Sharma, A. (2021). Rationalizing the role of monosodium glutamate in the protein aggregation through biophysical approaches: potential impact on neurodegeneration. *Frontiers in neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2021.636454>
- Akiba, Y., Watanabe, C., Mizumori, M., & Kaunitz, J. D. (2009). Luminal L-glutamate enhances duodenal mucosal defense mechanisms via multiple glutamate receptors in rats. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 297(4), 781-791. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.90605.2008/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH30100954880010.JPEG>
- Akpamu, U., Nwaopara, A. O., Izunya, A. M., Oaikhen, G. A., Okhai, O., Idonije, B. O., & Osifo, U. C. (2012). A comparative study on weight changes in rats fed with diet containing Yaji, Yaji-additives and Yaji-spices *Biology and Medicine*, 3(5), 06-15.
- Amagase, K., Nakamura, E., Kato, S., & Takeuchi, K. (2015). Glutamate as a Potential Protective Drug in Gastrointestinal Mucosa. *Yakugaku Zasshi*, 135(6), 779-782. <https://doi.org/10.1248/YAKUSHI.14-00250-3>
- Ando, K. (2020). Umami and salt reduction. *Hypertension Research*, 43(6), 569-570. <https://doi.org/10.1038/s41440-020-0414-4>
- Aponte, M., Murru, N., & Shoukat, M. (2020). Therapeutic, Prophylactic, and Functional Use of Probiotics: A Current Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2120. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.562048/BIBTEX>
- Araya, M., Morelli, L., Reid, G., Sanders, M. E., Stanton, C., Pineiro, M., & Ben Embarek, P. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food.*
- Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 24(5), 101-105. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11>
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt — A review. *International Journal of Food Microbiology*, 149(3), 194-208. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2011.07.008>

- Bäckhed, F., Fraser, C. M., Ringel, Y., Sanders, M. E., Sartor, R. B., Sherman, P. M., Versalovic, J., Young, V., & Finlay, B. B. (2012). Defining a healthy human gut microbiome: Current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host and Microbe*, 12(5), 611-622. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.10.012>
- Baj, A., Moro, E., Bistoletti, M., Orlandi, V., Crema, F., & Giaroni, C. (2019). Glutamatergic Signaling Along The Microbiota-Gut-Brain Axis. *International journal of molecular sciences*, 20(6). <https://doi.org/10.3390/IJMS20061482>
- Banerjee, A., Mukherjee, S., & Maji, B. K. (2021). Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicology Reports*, 8, 938-961. <https://doi.org/10.1016/J.TOXREP.2021.04.009>
- Barraj, L., Murphy, M., Tran, N., & Petersen, B. (2016). Chemistry, manufacturing and exposure assessments to support generally recognized as safe (GRAS) determinations. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 79 Suppl 2, S99-S104. <https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2016.07.003>
- Battezzati, A., Brillon, D. J., & Matthews, D. E. (1995). Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans, 269 (232-2). <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.1995.269.2.E269>
- Bayram, H. M., Akgoz, H. F., Kizildemir, O., & Ozturkcan, A. (2023). Monosodium Glutamate: review on preclinical and clinical reports. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(2), 149. <https://doi.org/10.33263/BRIAC132.149>
- Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.03.011>
- Bellisle, F. (2008). Experimental studies of food choices and palatability responses in European subjects exposed to the Umami taste. *Asia Pac J Clin Nutr*, 17(S1), 376-379.
- Beyreuther, K., Biesalski, H. K., Fernstrom, J. D., Grimm, P., Hammes, W. P., Heinemann, U., Kempfski, O., Stehle, P., Steinhart, H., & Walker, R. (2007). Consensus meeting: monosodium glutamate - an update. *European journal of clinical nutrition*, 61(3), 304-313. <https://doi.org/10.1038/SJ.EJCN.1602526>
- Blachier, F., Guihot-Joubrel, G., Vaugelade, P., Le Boucher, J., Bernard, F., Duée, P. H., & Cynober, L. (1999). Portal hyperglutatememia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs. *Digestion*, 60(4), 349-357. <https://doi.org/10.1159/000007682>
- Boisrobert, C. E., Stjepanovic, A., Oh, S., & Lelieveld, H. L. M., (Eds.). (2009). *Ensuring global food safety : exploring global harmonization*. Academic Press.
- Boonnate, P., Waraasawapati, S., Hipkaco, W., Pethlert, S., Sharma, A., Selmi, C., Prasongwattana, V., & Cha'on, U. (2015). Monosodium glutamate dietary consumption decreases pancreatic β -cell mass in adult wistar rats. *PLOS ONE*, 10(6), e0131595. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0131595>
- Boutry, C. (2011). Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats. *Front Biosci (Elite Ed)*, 3, 279-290. <https://doi.org/10.1109/leoswt.2008.4444364>

- Brosnan, J. T., Drewnowski, A., & Friedman, M. I. (2014). Is there a relationship between dietary MSG and [corrected] obesity in animals or humans? *Amino acids*, 46(9), 2075-2087. <https://doi.org/10.1007/S00726-014-1771-6>
- Brüssow, H. (2020). Problems with the concept of gut microbiota dysbiosis. *Microbial Biotechnology*, 13(2), 423-434. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13479>
- Burrin, D. G., & Stoll, B. (2009). Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *The American journal of clinical nutrition*, 90(3). <https://doi.org/10.3945/AJCN.2009.27462Y>
- Caccia, S., Garattini, S., Ghezzi, P., & Zanini, M. G. (1982). Plasma and brain levels of glutamate and pyroglutamate after oral monosodium glutamate to rats. *Toxicology Letters*, 10(2-3), 169-175. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(82\)90070-4](https://doi.org/10.1016/0378-4274(82)90070-4)
- Cao, Y., Liu, H., Qin, N., Ren, X., Zhu, B., & Xia, X. (2020). Impact of food additives on the composition and function of gut microbiota: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 99(November 2019), 295-310. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.006>
- Carter, B. E., Monsivais, P., Perrigue, M. M., & Drewnowski, A. (2011). Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces hunger and desire to snack but does not affect energy intake in women. *British Journal of Nutrition*, 106(9), 1441-1448. <https://doi.org/10.1017/S0007114511001759>
- Chaudhari, N., Landin, A. M., & Roper, S. D. (2000). A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nature Neuroscience*, 3(2), 113-119. <https://doi.org/10.1038/72053>
- Chazelas, E., Deschasaux, M., Srouf, B., Kesse-Guyot, E., Julia, C., Alles, B., Druet-Pecollo, N., Galan, P., Hercberg, S., Latino-Martel, P., Esseddik, Y., Szabo, F., Slamich, P., Gigandet, S., & Touvier, M. (2020). Food additives: distribution and co-occurrence in 126,000 food products of the French market. *Scientific Reports*, 10(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60948-w>
- Chazelas, E., Druet-Pecollo, N., Esseddik, Y., de Edelenyi, F. S., Agaesse, C., De Sa, A., Luchia, R., Rebouillat, P., Srouf, B., Debras, C., Wendeu-Foyet, G., Huybrechts, I., Pierre, F., Coumoul, X., Julia, C., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Galan, P., Hercberg, S., ... Touvier, M. (2021). Exposure to food additive mixtures in 106,000 French adults from the NutriNet-Santé cohort. *Scientific Reports*, 11(1), 1-21. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98496-6>
- Chevassus, H., Renard, E., Bertrand, G., Mourand, I., Puech, R., Molinier, N., Bockaert, J., Petit, P., & Bringer, J. (2002). Effects of oral monosodium (l)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 53(6), 641. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2125.2002.01596.X>
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.01.035>
- Codex Alimentarius. (2018). Standard for Fermented Milks—Codex Standard 243-2003. *CODEX: Rome, Italy*, 1-12.
- Collison, K. S., Maqbool, Z., Saleh, S. M., Inglis, A., Makhoul, N. J., Bakheet, R., Al-Johi, M., Al-Rabiah, R., Zaidi, M. Z., & Al-Mohanna, F. A. (2009). Effect of dietary monosodium glutamate

on trans fat-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Lipid Research*, 50(8), 1521-1537. <https://doi.org/10.1194/jlr.M800418-JLR200>

Collison, K. S., Zaidi, M. Z., Saleh, S. M., Makhoul, N. J., Inglis, A., Burrows, J., Araujo, J. A., & Al-Mohanna, F. A. (2012). Nutrigenomics of hepatic steatosis in a feline model: Effect of monosodium glutamate, fructose, and Trans-fat feeding. *Genes and Nutrition*, 7(2), 265-280. <https://doi.org/10.1007/S12263-011-0261-7/FIGURES/5>

Cryan, J. F., O'riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggar, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., ... Dinan, T. G. (2019). The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*, 99(4), 1877-2013. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00018.2018/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9J0041929160006.JPEG>

De Filippo, C., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Albanese, D., Pieraccini, G., Banci, E., Miglietta, F., Cavalieri, D., & Lionetti, P. (2017). Diet, environments, and gut microbiota. a preliminary investigation in children living in rural and urban Burkina Faso and Italy. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1979. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.01979>

Del Campo, R., Bravo, D., Cantón, R., Ruiz-Garbajosa, P., García-Albiach, R., Montesi-Libois, A., Yuste, F. J., Abaira, V., & Baquero, F. (2005). Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt consumption by healthy volunteers. *Applied and environmental microbiology*, 71(1), 547-549. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.547-549.2005>

Dempsey, E., & Corr, S. C. (2022). *Lactobacillus* spp. for gastrointestinal health: current and future perspectives. *Frontiers in immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.840245>

Dermiki, M., Prescott, J., Sargent, L. J., Willway, J., Gosney, M. A., & Methven, L. (2015). Novel flavours paired with glutamate condition increased intake in older adults in the absence of changes in liking. *Appetite*, 90, 108-113. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2015.03.002>

Derrien, M., Alvarez, A. S., & de Vos, W. M. (2019). The gut microbiota in the first decade of life. *Trends in Microbiology*, 27(12), 997-1010. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.08.001>

Dimitrov, Z. (2019). Assessment of *Lactobacillus bulgaricus* strain in human intestinal samples by denaturation gradient gel electrophoresis. *Trakia Journal of Sciences*, 17(4), 312-317. <https://doi.org/10.15547/tjs.2019.04.003>

Diniz, Y. S., Faine, L. A., Galhardi, C. M., Rodrigues, H. G., Ebaid, G. X., Burneiko, R. C., Cicogna, A. C., & Novelli, E. L. B. (2005). Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition*, 21(6), 749-755. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2004.10.013>

Duncan, S. H., Lobley, G. E., Holtrop, G., Ince, J., Johnstone, A. M., Louis, P., & Flint, H. J. (2008). Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *International journal of obesity*, 32(11), 1720-1724. <https://doi.org/10.1038/IJO.2008.155>

Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1110591>

- EFSA Scientific Committee, Scientific Committee and Emerging Risks Unit (2019). Minutes of the 92nd Plenary Meeting. <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/event/190219-min.pdf>
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2017). Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives. *EFSA Journal*, 15(7), e04910. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2017.4910>
- Elli, M., Callegari, M. L., Ferrari, S., Bessi, E., Cattivelli, D., Soldi, S., Morelli, L., Feuillerat, N. G., & Antoine, J. M. (2006). Survival of yogurt bacteria in the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 5113. <https://doi.org/10.1128/AEM.02950-05>
- European Parliament, & Council of the European Union. (2008). Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. *Official Journal of the European Union*, 354, 16-3.
- Evivie, S. E., Abdelazez, A., Li, B., Lu, S., Liu, F., & Huo, G. (2020). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KLDs 1.0207 Exerts antimicrobial and cytotoxic effects in vitro and improves blood biochemical parameters in vivo against notable foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2322. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.583070/BIBTEX>
- Eweka, A., Igbigbi, P., & Ucheya, R. (2011). Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 1(1), 21. <https://doi.org/10.5580/291a>
- Farhat, F. (2021). Monosodium Glutamate Safety, Neurotoxicity and Some Recent Studies. *Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(2), 224-245. <https://doi.org/10.21608/ajps.2021.187828>
- Fassarella, M., Blaak, E. E., Penders, J., Nauta, A., Smidt, H., & Zoetendal, E. G. (2021). Gut microbiome stability and resilience: elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health. *Gut*, 70(3), 595-605. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321747>
- Feng, Z., Li, T., Wu, C., Tao, L., Blachier, F., & Yin, Y. (2014). Monosodium l-glutamate and dietary fat exert opposite effects on the proximal and distal intestinal health in growing pigs. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40(4), 353-363. <https://doi.org/10.1139/APNM-2014-0434>
- Feng, Z.-M., Li, T.-J., Wu, L., Xiao, D.-F., Blachier, F., & Yin, Y.-L. (2015). Monosodium l-glutamate and dietary fat differently modify the composition of the intestinal microbiota in growing pigs. *Obesity Facts*, 8(2), 87-100. <https://doi.org/10.1159/000380889>
- Fernstrom, J. D. (2018). Monosodium glutamate in the diet does not raise brain glutamate concentrations or disrupt brain functions. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(5), 43-52. <https://doi.org/10.1159/000494782>
- Flint, H. J., Duncan, S. H., & Louis, P. (2017). The impact of nutrition on intestinal bacterial communities. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 59-65. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2017.04.005>
- García-Albiach, R., José, M., De Felipe, P., Angulo, S., Morosini, M.-I., Bravo, D., Baquero, F., & Del Campo, R. (2008). Molecular analysis of yogurt containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp.

bulgaricus and Streptococcus thermophilus in human intestinal microbiota. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 87(1), 91-96. <https://academic.oup.com/ajcn/article/87/1/91/4633219>

García-Hernández, J., Moreno, Y., Chuan, C., & Hernández, M. (2012). In vivo study of the survival of lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus CECT 4005T and streptococcus thermophilus CECT 801 by DVC-FISH after consumption of fermented milk. *Journal of Food Science*, 77(10), 1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02918.x>

Geha, R. S., Beiser, A., Ren, C., Patterson, R., Greenberger, P. A., Grammer, L. C., Ditto, A. M., Harris, K. E., Shaughnessy, M. A., Yarnold, P. R., Corren, J., & Saxon, A. (2000). Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(5), 973-980. <https://doi.org/10.1067/MAI.2000.110794>

Ghezzi, P., Bianchi, M., Gianera, L., Salmona, M., & Garattini, S. (1985). Kinetics of monosodium glutamate in human volunteers under different experimental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 23(11), 975-978. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90246-7](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90246-7)

Filer, L. J., Garattini, S., Kare, M. R., Reynolds, W. A., & Wurtman, R. J. (Eds.). (1979). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology*. New York: Raven Press

Gilbert, J. A., Quinn, R. A., Debelius, J., Xu, Z. Z., Morton, J., Garg, N., Jansson, J. K., Dorrestein, P. C., & Knight, R. (2016). Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature*, 535(7610), 94-103. <https://doi.org/10.1038/NATURE18850>

Gizaw, Z. (2019). Public health risks related to food safety issues in the food market: a systematic literature review. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 24(1), 1-21. <https://doi.org/10.1186/S12199-019-0825-5>

Gomaa, E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 113(12), 2019-2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>

Graham, T. E., Sgro, V., Friars, D., & Gibala, M. J. (2000). Glutamate ingestion: the plasma and muscle free amino acid pools of resting humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 278(141-1).

<https://doi.org/10.1152/AJPENDO.2000.278.1.E83/ASSET/IMAGES/LARGE/AEND10107004X.JPEG>

Grigor'eva, I. N. (2020). Gallstone disease, obesity and the firmicutes/bacteroidetes ratio as a possible biomarker of gut dysbiosis. *Journal of Personalized Medicine*, 11(1), 13. <https://doi.org/10.3390/JPM11010013>

Guglielmotti, D. M., Maria'ngeles, M., Marcoá, B., Golowczyc, M., Reinheimer, J. A., & Quiberoni, A. D. L. (2007). Probiotic potential of Lactobacillus delbrueckii strains and their phage resistant mutants. *International Dairy Journal*, 17, 916-925. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.11.004>

Hajhihasani, M. M., Soheili, V., Zirak, M. R., Sahebkar, A., & Shakeri, A. (2020). Natural products as safeguards against monosodium glutamate-induced toxicity. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(4), 416-430. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2020.43060.10123>

- Hayabuchi, H., Morita, R., Ohta, M., Nanri, A., Matsumoto, H., Fujitani, S., Yoshida, S., Ito, S., Sakima, A., Takase, H., Kusaka, M., & Tsuchihashi, T. (2020). Validation of preferred salt concentration in soup based on a randomized blinded experiment in multiple regions in Japan—influence of umami (l-glutamate) on saltiness and palatability of low-salt solutions. *Hypertension Research*, 43(6), 525-533. <https://doi.org/10.1038/s41440-020-0397-1>
- Haÿs, S. P., Ordonez, J. M., Burrin, D. G., & Suneag, A. L. (2007b). Dietary glutamate is almost entirely removed in its first pass through the splanchnic bed in premature infants. *Pediatric research*, 62(3), 353-356. <https://doi.org/10.1203/PDR.0B013E318123F719>
- He, K., Du, S., Xun, P., Sharma, S., Wang, H., Zhai, F., & Popkin, B. (2011). Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(6), 1328-1336. <https://doi.org/10.3945/AJCN.110.008870>
- He, K., Zhao, L., Daviglus, M. L., Dyer, A. R., Van Horn, L., Garside, D., Zhu, L., Guo, D., Wu, Y., Zhou, B., & Stamler, J. (2008). Association of monosodium glutamate intake with overweight in chinese adults: The INTERMAP Study. *Obesity*, 16(8), 1875-1880. <https://doi.org/10.1038/OBY.2008.274>
- Heinritz, S. N., Mosenthin, R., & Weiss, E. (2013). Use of pigs as a potential model for research into dietary modulation of the human gut microbiota. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 191-209. <https://doi.org/10.1017/S0954422413000152>
- Henry-Unaeze, H. N. (2017). Update on food safety of monosodium l-glutamate (MSG). *Pathophysiology*, 24(4), 243-249. <https://doi.org/10.1016/J.PATHOPHYS.2017.08.001>
- Hermanussen, M., & Tresguerres, J. A. F. (2003). Does high glutamate intake cause obesity? *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 16(7), 965-968. <https://doi.org/10.1515/JPEM.2003.16.7.965/HTML>
- Hirata, A. E., Andrade, I. S., Vaskevicius, P., & Dolnikoff, M. S. (1997). Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Brazilian journal of medical and biological research*, 30(5), 671-674. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000500016>
- Homann, C. M., Rossel, C. A. J., Dizzell, S., Bervoets, L., Simioni, J., Li, J., Gunn, E., Surette, M. G., de Souza, R. J., Mommers, M., Hutton, E. K., Morrison, K. M., Penders, J., van Best, N., & Stearns, J. C. (2021). Infants' first solid foods: Impact on gut microbiota development in two intercontinental cohorts. *Nutrients*, 13(8), 2639. <https://doi.org/10.3390/NU13082639/S1>
- Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J., & Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/S41392-022-00974-4>
- Hu, C. J., Jiang, Q. Y., Zhang, T., Yin, Y. L., Li, F. N., Deng, J. P., Wu, G. Y., & Kong, X. F. (2017). Dietary supplementation with arginine and glutamic acid modifies growth performance, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs. *Journal of animal science*, 95(6), 2680-2689. <https://doi.org/10.2527/JAS.2017.1388>
- Husarova, V., & Ostatnikova, D. (2013). Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. *JMED Research*, 2013. <https://doi.org/10.5171/2013.608765>

- Hutcheson, K. (1970). A test for comparing diversities based on the shannon formula. *Journal of Theoretical Biology*, 29(1), 151-154. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(70\)90124-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(70)90124-4)
- Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., Creasy, H. H., Earl, A. M., Fitzgerald, M. G., Fulton, R. S., Giglio, M. G., Hallsworth-Pepin, K., Lobos, E. A., Madupu, R., Magrini, V., Martin, J. C., Mitreva, M., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., White, O. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207-214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Ikeda, K. (2002). New Seasonings. *Chemical senses*, 27(9), 847-849.
- Illikoud, N., Mantel, M., Rolli-Derkinderen, M., Gagnaire, V., & Jan, G. (2022). Dairy starters and fermented dairy products modulate gut mucosal immunity. *Immunology Letters*, 251-252, 91-102. <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2022.11.002>
- Imada, T., Hao, S. S., Torii, K., & Kimura, E. (2014). Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces energy intake from high fat and sweet snacks in middle-aged healthy women. *Appetite*, 79, 158-165. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2014.04.011>
- Insawang, T., Selmi, C., Cha'on, U., Pethlert, S., Yongvanit, P., Areejitranusorn, P., Boonsiri, P., Khampitak, T., Tangrassameeprasert, R., Pinitsoontorn, C., Prasongwattana, V., Gershwin, M. E., & Hammock, B. D. (2012). Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutrition and Metabolism*, 9(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-9-50/TABLES/2>
- Izumi, Y., Yamamoto, N., Matsuo, T., Wakita, S., Takeuchi, H., Kume, T., Katsuki, H., Sawada, H., & Akaike, A. (2009). Vulnerability to glutamate toxicity of dopaminergic neurons is dependent on endogenous dopamine and MAPK activation. *Journal of Neurochemistry*, 110(2), 745-755. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2009.06178.X>
- Jakobsson, H. E., Abrahamsson, T. R., Jenmalm, M. C., Harris, K., Quince, C., Jernberg, C., Björkstén, B., Engstrand, L., & Andersson, A. F. (2014). Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*, 63(4), 559-566. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2012-303249>
- Janeczko, M. J., Stoll, B., Chang, X., Guan, X., & Burrin, D. G. (2007). Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs. *The Journal of Nutrition*, 137(11), 2384-2390. <https://doi.org/10.1093/JN/137.11.2384>
- Jerez-Morales, A., Merino, J. S., Díaz-Castillo, S. T., Smith, C. T., Fuentealba, J., Bernasconi, H., Echeverriá, G., & García-Cancino, A. (2021). The administration of the synbiotic lactobacillus bulgaricus 6c3 strain, inulin and fructooligosaccharide decreases the concentrations of indoxyl sulfate and kidney damage in a rat model. *Toxins*, 13(3), 192. <https://doi.org/10.3390/TOXINS13030192>
- Jinap, S., & Hajeb, P. (2010). Glutamate. Its applications in food and contribution to health. *Appetite*, 55(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.05.002>
- Kalliomäki, M., Collado, M. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2008). Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *The American journal of clinical nutrition*, 87(3), 534-538. <https://doi.org/10.1093/AJCN/87.3.534>

- Kim, J. H., Choi, Y. J., Kwon, H. J., Jung, K., Kim, S. E., Moon, W., Park, M. I., & Park, S. J. (2020). Effect of gut microbiome on minor complications after a colonoscopy. *Intestinal Research*, 19(3), 341-348. <https://doi.org/10.5217/IR.2020.00057>
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 165(6), 1332-1345. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.05.041>
- Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V., Gavalko, Y., Dorofeyev, A., Romanenko, M., Tkach, S., Sineok, L., Lushchak, O., & Vaiserman, A. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiology*, 17(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/S12866-017-1027-1/FIGURES/2>
- Kondoh, T., & Torii, K. (2008). MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague–Dawley rats. *Physiology & Behavior*, 95(1-2), 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.05.010>
- Kong, X. F., Zhou, X. L., Feng, Z. M., Li, F. N., Ji, Y. J., Tan, B. E., Liu, Y. Y., Geng, M. M., Wu, G. Y., Blachier, F., & Yin, Y. L. (2015). Dietary supplementation with monosodium l-glutamate modifies lipid composition and gene expression related to lipid metabolism in growing pigs fed a normal- or high-fat diet. *Livestock Science*, 180, 247-252. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2015.06.023>
- Kopp, W. (2019). How western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 12, 2221-2236. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S216791>
- Krishnan, S., Alden, N., & Lee, K. (2015). Pathways and functions of gut microbiota metabolism impacting host physiology. *Current Opinion in Biotechnology*, 36, 137-145. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2015.08.015>
- Kumar, P., & Bhandari, U. (2013). Protective effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn. on monosodium glutamate-induced dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Indian journal of pharmacology*, 45(2), 136-140. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.108288>
- Kurihara, K. (2015). Umami the Fifth Basic Taste: History of Studies on Receptor Mechanisms and Role as a Food Flavor. *BioMed research international*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/189402>
- Kwok, R. H. M. (1968). Chinese Restaurant Syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 278(14), 796. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(80\)90806-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(80)90806-5)
- Lach, G., Fülling, C., Bastiaanssen, T. F. S., Fouhy, F., Donovan, A. N. O., Ventura-Silva, A. P., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2020). Enduring neurobehavioral effects induced by microbiota depletion during the adolescent period. *Translational Psychiatry*, 10(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01073-0>
- Laganà, P., Avventuroso, E., Romano, G., Gioffré, M. E., Patanè, P., Parisi, S., Moscato, U., & Delia, S. (2017). *Chemistry and Hygiene of Food Additives*. Springer.

- Lahti, L., Salojärvi, J., Salonen, A., Scheffer, M., & De Vos, W. M. (2014). Tipping elements in the human intestinal ecosystem. *Nature Communications*, 5(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/ncomms5344>
- Laudisi, F., Stolfi, C., & Monteleone, G. (2019). Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients*, 11(10), 2334. <https://doi.org/10.3390/nu11102334>
- Lee, E. H., and Lee, D. Il. (1986). A study on intake level of mono sodium glutamate in Korea. *Çinde Journal of Environmental Health Sciences*, 12(2), 75-85.
- Lee, J. Y., Tsohis, R. M., & Bäumlér, A. J. (2022). The microbiome and gut homeostasis. *Science*, 377(6601). <https://doi.org/10.1126/science.abp9960>
- Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022-1023. <https://doi.org/10.1038/4441022A>
- Li, C., Niu, Z., Zou, M., Liu, S., Wang, M., Gu, X., Lu, H., Tian, H., & Jha, R. (2020). Probiotics, prebiotics, and synbiotics regulate the intestinal microbiota differentially and restore the relative abundance of specific gut microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 5816-5829. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-18003>
- Li, N., Zuo, B., Huang, S., Zeng, B., Han, D., Li, T., Liu, T., Wu, Z., Wei, H., Zhao, J., & Wang, J. (2020). Spatial heterogeneity of bacterial colonization across different gut segments following inter-species microbiota transplantation. *Microbiome*, 8(1), 1-24. <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00917-7/FIGURES/10>
- Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., & Adler, E. (2002). Human receptors for sweet and umami taste. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(7), 4692-4696. <https://doi.org/10.1073/PNAS.072090199>
- Lindemann, B., Ogiwara, Y., & Ninomiya, Y. (2002). The discovery of umami [2]. *Chemical Senses*, 27(9), 843-844. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.9.843>
- Liu, D., Ainsworth, A. J., Austin, F. W., & Lawrence, M. L. (2004). Use of PCR primers derived from a putative transcriptional regulator gene for species-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 91(3), 297-304. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2003.07.004>
- Liu, Y., Zhou, L., Xu, H. F., Yan, L., Ding, F., Hao, W., Cao, J. M., & Gao, X. (2013). A preliminary experimental study on the cardiac toxicity of glutamate and the role of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor in rats. *Chinese Medical Journal*, 126(7), 1323-1332. <https://doi.org/10.3760/CMA.J.ISSN.0366-6999.20120497>
- López-Miranda, V., Soto-Montenegro, M. L., Uranga-Ocio, J. A., Vera, G., Herradón, E., González, C., Blas, C., Martínez-Villaluenga, M., López-Pérez, A. E., Desco, M., & Abalo, R. (2015). Effects of chronic dietary exposure to monosodium glutamate on feeding behavior, adiposity, gastrointestinal motility, and cardiovascular function in healthy adult rats. *Neurogastroenterology & Motility*, 27(11), 1559-1570. <https://doi.org/10.1111/NMO.12653>

- Luo, W., Yin, Z., Zhang, M., Huang, X., & Yin, J. (2024). Dietary *Lactobacillus delbrueckii* affects ileal bacterial composition and circadian rhythms in pigs. *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 14(3), 412. <https://doi.org/10.3390/ANI14030412>
- Luscombe-Marsh, N. D., Smeets, A. J. P. G., & Westerterp-Plantenga, M. S. (2008). Taste sensitivity for monosodium glutamate and an increased liking of dietary protein. *British Journal of Nutrition*, 99(4), 904-908. <https://doi.org/10.1017/S000711450788295X>
- Luscombe-Marsh, N. D., Smeets, A. J. P. G., & Westerterp-Plantenga, M. S. (2009). The addition of monosodium glutamate and inosine monophosphate-5 to high-protein meals: effects on satiety, and energy and macronutrient intakes. *British Journal of Nutrition*, 102(6), 929-937. <https://doi.org/10.1017/S0007114509297212>
- Maga, J. A., & Yamaguchi, S. (1983). Flavor potentiators. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 18(3), 231-312. <https://doi.org/10.1080/10408398309527364>
- Magnuson, B., Munro, I., Abbot, P., Baldwin, N., Lopez-Garcia, R., Ly, K., McGirr, L., Roberts, A., & Socolovsky, S. (2013). Review of the regulation and safety assessment of food substances in various countries and jurisdictions. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(7), 1147-1220. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.795293>
- Makino, S., Sato, A., Goto, A., Nakamura, M., Ogawa, M., Chiba, Y., Hemmi, J., Kano, H., Takeda, K., Okumura, K., & Asami, Y. (2016a). Enhanced natural killer cell activation by exopolysaccharides derived from yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Journal of dairy science*, 99(2), 915-923. <https://doi.org/10.3168/JDS.2015-10376>
- Malesza, I. J., Malesza, M., Walkowiak, J., Mussin, N., Walkowiak, D., Aringazina, R., Bartkowiak-Wieczorek, J., & Mądry, E. (2021). High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells*, 10(11), 3164. <https://doi.org/10.3390/CELLS10113164>
- Maloy, K. J., & Powrie, F. (2011). Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), 298-306. <https://doi.org/10.1038/nature10208>
- Mariat, D., Firmesse, O., Levenez, F., Guimarães, V. D., Sokol, H., Doré, J., Corthier, G., & Furet, J. P. (2009). The firmicutes/bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiology*, 9(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-123/FIGURES/1>
- Martino, C., Dillmore, A. H., Burcham, Z. M., Metcalf, J. L., Jeste, D., & Knight, R. (2022). Microbiota succession throughout life from the cradle to the grave. *Nature Reviews Microbiology*, 20(12), 707-720. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00768-z>
- Mater, D. D. G., Bretigny, L., Firmesse, O., Flores, M. J., Mogenet, A., Bresson, J. L., & Corthier, G. (2005). *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt. *FEMS Microbiology Letters*, 250(2), 185-187. <https://doi.org/10.1016/J.FEMSLE.2005.07.006>
- Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E., & Rotondo, J. C. (2023). Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/CELLS12010184>

- McFarland, L. V. (2015). From yaks to yogurt: the history, development, and current use of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 60 Suppl 2, 85-S90. <https://doi.org/10.1093/CID/CIV054>
- Meng, C., Feng, S., Hao, Z., Dong, C., & Liu, H. (2022). Changes in gut microbiota composition with age and correlations with gut inflammation in rats. *PLOS ONE*, 17(3), e0265430. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0265430>
- Metchnikoff, E. *The prolongation of life: optimistic studies*. (1908). New York: Putnam's Sons.
- Miclotte, L., Paepe, K. De, Rymenans, L., Callewaert, C., Raes, J., Rajkovic, A., Camp, J. Van, & Wiele, T. Van de. (2020). Dietary emulsifiers alter composition and activity of the human gut microbiota in vitro, irrespective of chemical or natural emulsifier origin. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.577474>
- Min, Y., Ma, X., Sankaran, K., Ru, Y., Chen, L., Baiocchi, M., & Zhu, S. (2019). Sex-specific association between gut microbiome and fat distribution. *Nature Communications*, 10(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10440-5>
- Miyaki, T., Imada, T., Shuzhen Hao, S., & Kimura, E. (2016). Monosodium L-glutamate in soup reduces subsequent energy intake from high-fat savoury food in overweight and obese women. *The British Journal of Nutrition*, 115(1), 176-184. <https://doi.org/10.1017/S0007114515004031>
- Mo, L., Jin, H., Pan, L., Hou, Q., Li, C., Darima, I., Zhang, H., & Yu, J. (2019). Biodiversity of lactic acid bacteria isolated from fermented milk products in Xinjiang, China. *Food Biotechnology*, 33(2), 174-192. <https://doi.org/10.1080/08905436.2019.1574230>
- Moro-Garcia, M. A., Alonso-Arias, R., Baltadjieva, M., Benitez, C. F., Barrial, M. A. F., Ruisánchez, E. D., Santos, R. A., Sánchez, M. A., Miján, J. S., & López-Larrea, C. (2013). Oral supplementation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 8481 enhances systemic immunity in elderly subjects. *Age*, 35(4), 1311-1326. <https://doi.org/10.1007/S11357-012-9434-6/FIGURES/6>
- Mosby, I. (2009). "That won-ton soup headache": The Chinese restaurant syndrome, MSG and the making of American food, 1968-1980. *Social History of Medicine*, 22(1), 133-151. <https://doi.org/10.1093/shm/hkn098>
- Mosca, A., Leclerc, M., & Hugot, J. P. (2016). Gut microbiota diversity and human diseases: Should we reintroduce key predators in our ecosystem? *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 178205. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.00455/BIBTEX>
- Nadal, I., Santacruz, A., Marcos, A., Warnberg, J., Garagorri, M., Moreno, L. A., Martin-Matillas, M., Campoy, C., Martí, A., Moleres, A., Delgado, M., Veiga, O. L., García-Fuentes, M., Redondo, C. G., & Sanz, Y. (2009). Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *International Journal of Obesity*, 33(7), 758-767. <https://doi.org/10.1038/IJO.2008.260>
- Nagpal, R., Wang, S., Solberg Woods, L. C., Seshie, O., Chung, S. T., Shively, C. A., Register, T. C., Craft, S., McClain, D. A., & Yadav, H. (2018). Comparative microbiome signatures and short-chain fatty acids in mouse, rat, non-human primate, and human feces. *Frontiers in Microbiology*, 9(NOV), 413720. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02897/BIBTEX>

- Nahok, K., Phetcharaburanin, J., Li, J. V., Silsirivanit, A., Thanan, R., Boonnate, P., Joonhuathon, J., Sharma, A., Anutrakulchai, S., Selmi, C., & Cha'on, U. (2021). Monosodium glutamate induces changes in hepatic and renal metabolic profiles and gut microbiome of wistar rats. *Nutrients*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/NU13061865>
- Naimi, S., Viennois, E., Gewirtz, A. T., & Chassaing, B. (2021). Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota. *Microbiome*, 9(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00996-6>
- Nakamura, H., Kawamata, Y., Kuwahara, T., Torii, K., & Sakai, R. (2013). Nitrogen in dietary glutamate is utilized exclusively for the synthesis of amino acids in the rat intestine. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 304(1), 100-108. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00331.2012/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH10011367190004.JPEG>
- Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2002). An amino-acid taste receptor. *Nature*, 416(6877), 199-202. <https://doi.org/10.1038/NATURE726>
- Niaz, K., Zaplatic, E., & Spoor, J. (2018). Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCLI Journal*, 17, 273. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2018-1092>
- Nishigaki, R., Yokoyama, Y., Shimizu, Y., Marumoto, R., Misumi, S., Ueda, Y., Ishida, A., Shibuya, Y., & Hida, H. (2018). Monosodium glutamate ingestion during the development period reduces aggression mediated by the vagus nerve in a rat model of attention deficit-hyperactivity disorder. *Brain Research*, 1690, 40-50. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2018.04.006>
- Odamaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Hashikura, N., Takahashi, S., Xiao, J. Z., Abe, F., & Osawa, R. (2016). Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiology*, 16(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/S12866-016-0708-5/TABLES/1>
- Ogbuagu, E. O., Airaodion, A. I., Okoroukwu, V. N., Ogbuagu, U., Ekenjoku, J. A., & Kumar Raju, S. (2019). Effect of monosodium glutamate on body weight and alanine aminotransferase activity in wistar rats. *International Research Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2(2), 1-8.
- Oladipo, I. C., Adebayo, E. A., Kuye, O. M., Olanbiwoninu, A. A., & Kim, C.-H. (2016). Effects of chronic consumption of monosodium glutamate in sprague dawley rats' liver. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 12(4), 1-6. <https://doi.org/10.9734/IJBCRR/2016/26324>
- Onaolapo, A. Y., Odetunde, I., Akintola, A. S., Ogundeji, M. O., Ajao, A., Obelawo, A. Y., & Onaolapo, O. J. (2019). Dietary composition modulates impact of food-added monosodium glutamate on behaviour, metabolic status and cerebral cortical morphology in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 417-428. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.10.172>
- Onaolapo, O. J., Onaolapo, A. Y., Akanmu, M. A., Olayiwola, G., Onaolapo, O. J., Onaolapo, A. Y., Akanmu, M. A., & Olayiwola, G. (2016). Changes in spontaneous working-memory, memory-recall and approach-avoidance following "low dose" monosodium glutamate in mice. *AIMS Neuroscience*, 3(3), 317-337. <https://doi.org/10.3934/NEUROSCIENCE.2016.3.317>

- Onyema, O. O., Farombi, E. O., Emerole, G. O., Ukoha, A. I., & Onyeze, G. O. (2006). Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 43(1), 20-24. <https://europepmc.org/article/med/16955747>
- Ortiz-Burgos, S. (2016). Shannon-weaver diversity index. *Encyclopedia of estuaries*, 572–573. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_233/COVER
- Peng, Q., Huo, D., Ma, C., Jiang, S., Wang, L., & Zhang, J. (2018). Monosodium glutamate induces limited modulation in gut microbiota. *Journal of Functional Foods*, 49, 493-500. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.09.015>
- Petersen, C., & Round, J. L. (2014). Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular Microbiology*, 16(7), 1024-1033. <https://doi.org/10.1111/CMI.12308>
- Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., & Gil, A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition*, 10(Suppl 1), S49. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMY063>
- Pongking, T., Haonon, O., Dangtakot, R., Onsurathum, S., Jusakul, A., Intuyod, K., Sangka, A., Anutrakulchai, S., Cha'on, U., Pinlaor, S., & Pinlaor, P. (2020). A combination of monosodium glutamate and high-fat and high-fructose diets increases the risk of kidney injury, gut dysbiosis and host-microbial co-metabolism. *PloS one*, 15(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0231237>
- Qiu, X., Wu, G., Wang, L., Tan, Y., & Song, Z. (2021). Lactobacillus delbrueckii alleviates depression-like behavior through inhibiting toll-like receptor 4 (TLR4) signaling in mice. *Annals of Translational Medicine*, 9(5), 366-366. <https://doi.org/10.21037/ATM-20-4411>
- Quinn, R. (2005). Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition*, 21(6), 775-777. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.04.002>
- Rangan, C., & Barceloux, D. G. (2009). Food Additives and Sensitivities. *Disease-a-month: DM*, 55(5), 292-311.. <https://doi.org/10.1016/J.DISAMONTH.2009.01.004>
- Reeds, P. J., Burrin, D. G., Jahoor, F., Wykes, L., Henry, J., & Frazer, E. M. (1996). Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs. *The American journal of physiology*, 270(3 Pt 1). <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.1996.270.3.E413>
- Reeds, P. J., Burrin, D. G., Stoll, B., & Jahoor, F. (2000). Intestinal glutamate metabolism. *The Journal of Nutrition*, 130(4), 978S-982S. <https://doi.org/10.1093/JN/130.4.978S>
- Resmi Gazete. (2011, Aralık 13). Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik (Sayı: 28141). Erişim Adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111213-4.htm>
- Resmi Gazete. (2023, 13 Ekim 2023). Türk Gıda Kodeksi, Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği (Sayı: 32338 (Mükerrer)) Erişim Adresi: <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=40365&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
- Rezaei, R., Knabe, D. A., Tekwe, C. D., Dahanayaka, S., Ficken, M. D., Fielder, S. E., Eide, S. J., Lovering, S. L., & Wu, G. (2013). Dietary supplementation with monosodium glutamate is safe

and improves growth performance in postweaning pigs. *Amino Acids*, 44(3), 911-923. <https://doi.org/10.1007/S00726-012-1420-X/TABLES/11>

Rhodes, J., Titherley, A. C., Norman, J. A., Wood, R., & Lord, D. W. (1991). A survey of the monosodium glutamate content of foods and an estimation of the dietary intake of monosodium glutamate. *Food Additives & Contaminants*, 8(5), 663-672. <https://doi.org/10.1080/02652039109374021>

Riedijk, M. A., De Gast-Bakker, D. A. H., Wattimena, J. L. D., & Van Goudoever, J. B. (2007). Splanchnic oxidation is the major metabolic fate of dietary glutamate in enterally fed preterm infants. *Pediatric Research* 2007 62:4, 62(4), 468-473. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31813cbeba>

Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>

Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., De los Reyes-Gavilán, C. G., & Salazar, N. (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 185. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.00185>

Rivera-Cervantes, M. C., Castañeda-Arellano, R., Castro-Torres, R. D., Gudiño-Cabrera, G., y Velasco, A. I. F., Camins, A., & Beas-Zárate, C. (2015). P38 MAPK inhibition protects against glutamate neurotoxicity and modifies NMDA and AMPA receptor subunit expression. *Journal of Molecular Neuroscience*, 55(3), 596-608. <https://doi.org/10.1007/S12031-014-0398-0/FIGURES/6>

Rizk, F. H., Soliman, N. A., Abo-Elnasr, S. E., Mahmoud, H. A., Abdel Ghafar, M. T., Elkholy, R. A., ELshora, O. A., Mariah, R. A., Amin Mashal, S. S., & El Saadany, A. A. (2022). Fisetin ameliorates oxidative glutamate testicular toxicity in rats via central and peripheral mechanisms involving SIRT1 activation. *Redox Report*, 27(1), 177-185. <https://doi.org/10.1080/13510002.2022.2116551>

Roca-Saavedra, P., Mendez-Vilabrille, V., Miranda, J. M., Nebot, C., Cardelle-Cobas, A., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2017). Food additives, contaminants and other minor components: effects on human gut microbiota—a review. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 74(1), 69-83. <https://doi.org/10.1007/S13105-017-0564-2>

Rothschild, D., Weissbrod, O., Barkan, E., Kurilshikov, A., Korem, T., Zeevi, D., Costea, P. I., Godneva, A., Kalka, I. N., Bar, N., Shilo, S., Lador, D., Vila, A. V., Zmora, N., Pevsner-Fischer, M., Israeli, D., Kosower, N., Malka, G., Wolf, B. C., & Segal, E. (2018). Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*, 555(7695), 210-215. <https://doi.org/10.1038/nature25973>

Rudyk, M., Hurmach, Y., Serhiichuk, T., Akulenko, I., Skivka, L., Berehova, T., & Ostapchenko, L. (2023). Multi-probiotic consumption sex-dependently interferes with MSG-induced obesity and concomitant phagocyte pro-inflammatory polarization in rats: food for thought about personalized nutrition. *Heliyon*, 9(2). <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2023.E13381>

Rutten, E. P. A., Engelen, M. P. K. J., Wouters, E. F. M., Schols, A. M. W. J., & Deutz, N. E. P. (2006). Metabolic effects of glutamine and glutamate ingestion in healthy subjects and in persons with

- chronic obstructive pulmonary disease. *The American journal of clinical nutrition*, 83(1), 115-123. <https://doi.org/10.1093/AJCN/83.1.115>
- Sadek, K., Abouzed, T., & Nasr, S. (2015). Lycopene modulates cholinergic dysfunction, Bcl-2/Bax balance, and antioxidant enzymes gene transcripts in monosodium glutamate (E621) induced neurotoxicity in a rat model. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0388>, 94(4), 394-401. <https://doi.org/10.1139/CJPP-2015-0388>
- Sand, J. (2005). A short history of msg: good science, bad science, and taste cultures. *Gastronomica*, 5(4), 38-49. <https://doi.org/10.5040/9780755603817.0010>
- Sasano, T., Satoh-Kuriwada, S., Shoji, N., Iikubo, M., Kawai, M., Uneyama, H., & Sakamoto, M. (2014). Important role of umami taste sensitivity in oral and overall health. *Current Pharmaceutical Design*, 20(16), 2750-2754. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990577>
- Selma, M. V., Espin, J. C., & Tomas-Barberan, F. A. (2009). Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6485-6501.
- Sengupta, P. (2013). The laboratory rat: relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(6), 624. [/pmc/articles/PMC3733029/](https://doi.org/10.1186/1745-6215-4-624)
- Shi, D., Lv, L., Fang, D., Wu, W., Hu, C., Xu, L., Chen, Y., Guo, J., Hu, X., Li, A., Guo, F., Ye, J., Li, Y., Andayani, D., & Li, L. (2017). Administration of *Lactobacillus salivarius* LI01 or *Pediococcus pentosaceus* LI05 prevents CCl₄-induced liver cirrhosis by protecting the intestinal barrier in rats. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07091-1>
- Shi, Z., Luscombe-Marsh, N. D., Wittert, G. A., Yuan, B., Dai, Y., Pan, X., & Taylor, A. W. (2010). Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study of Chinese adults. *The British Journal of Nutrition*, 104(3), 457-463. <https://doi.org/10.1017/S0007114510000760>
- Shi, Z., Taylor, A. W., Yuan, B., Zuo, H., & Wittert, G. A. (2014). Monosodium glutamate intake is inversely related to the risk of hyperglycemia. *Clinical Nutrition*, 33(5), 823-828. <https://doi.org/10.1016/J.CLNU.2013.10.018>
- Shi, Z., Yuan, B., Taylor, A. W., Dai, Y., Pan, X., Gill, T. K., & Wittert, G. A. (2011). Monosodium glutamate is related to a higher increase in blood pressure over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study of Chinese adults. *Journal of Hypertension*, 29(5), 846-853. <https://doi.org/10.1097/HJH.0B013E328344DA8E>
- Shin, N. R., Whon, T. W., & Bae, J. W. (2015). Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*, 33(9), 496-503. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2015.06.011>
- Sreejesh, P. G., & Sreekumaran, E. (2018). Effect of monosodium glutamate on striato-hippocampal acetylcholinesterase level in the brain of male Wistar albino rats and its implications on learning and memory during aging. *Biosci. Biotech. Res. Comm*, 11(1), 76-82. <https://doi.org/10.21786/bbrc/11.1/11>

- Statovci, D., Aguilera, M., MacSharry, J., & Melgar, S. (2017). The impact of western diet and nutrients on the microbiota and immune response at mucosal interfaces. *Frontiers in Immunology*, 8, 258027. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00838>
- Stegink, L. D., Filer, L. J., & Baker, G. L. (1985). Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consomme. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(2), 220-225. <https://doi.org/10.1093/AJCN/42.2.220>
- Stojanov, S., Berlec, A., & Štrukelj, B. (2020). The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), 1-16. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8111715>
- Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D., De Felice, C., Donati, C., Hayek, J., Jousson, O., Leoncini, S., Renzi, D., Calabrò, A., & De Filippo, C. (2017). New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/S40168-017-0242-1>
- Stuart, S. A., & Robinson, E. S. J. (2015). Reducing the stress of drug administration: implications for the 3Rs. *Scientific Reports* 2015, 5(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/srep14288>
- Suez, J., Zmora, N., Segal, E., & Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25(5), 716-729. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0439-x>
- Şengül, N., Işık, S., Aslım, B., Uçar, G., & Demirbağ, A. E. (2011). The effect of exopolysaccharide-producing probiotic strains on gut oxidative damage in experimental colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(3), 707-714. <https://doi.org/10.1007/S10620-010-1362-7/FIGURES/2>
- Tabbal, J. El. (2022). Monosodium glutamate in a type 2 diabetes context : A large scoping review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 133(May), 105223. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105223>
- Takagi, T., Naito, Y., Kashiwagi, S., Uchiyama, K., Mizushima, K., Kamada, K., Ishikawa, T., Inoue, R., Okuda, K., Tsujimoto, Y., Ohnogi, H., & Itoh, Y. (2020). Changes in the gut microbiota are associated with hypertension, hyperlipidemia, and type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Nutrients*, 12(10), 2996. <https://doi.org/10.3390/NU12102996>
- Tanphaichitr, V., Leelahagul, P., & Suwan, K. (2000). Plasma amino acid patterns and visceral protein status in users and nonusers of monosodium glutamate. *The Journal of Nutrition*, 130(4), 1005S-1006S. <https://doi.org/10.1093/JN/130.4.1005S>
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2023, Ekim 13). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği Güncellendi. <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Haber/632/Turk-Gida-Kodeksi-Gida-Katki-Maddeleri-Yonetmeliği-Guncellendi>
- Tennant, D. R. (2018). Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European Union. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(5), 21-28. <https://doi.org/10.1159/000494778>
- Thu Hien, V. T., Thi Lam, N., Cong Khan, N., Wakita, A., & Yamamoto, S. (2013). Monosodium glutamate is not associated with overweight in Vietnamese adults. *Public Health Nutrition*, 16(5), 922-927. <https://doi.org/10.1017/S1368980012003552>

- Thuy, L. N., Salanță, L. C., Tofană, M., Socaci, S. A., Fărcaș, A. C., & Pop, C. R. (2020). Mini review about monosodium glutamate. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 77(1), 1. <https://doi.org/10.15835/BUASVMCN-FST:2019.0029>
- Tomé, D. (2018). The roles of dietary glutamate in the intestine. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73(Suppl 5), 15-20. <https://doi.org/10.1159/000494777>
- Tomoe, M., Inoue, Y., Sanbe, A., Toyama, K., Yamamoto, S., & Komatsu, T. (2009). Clinical trial of glutamate for the improvement of nutrition and health in the elderly. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170(1), 82-86. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2009.03898.X>
- Tordoff, M. G., Aleman, T. R., & Murphy, M. C. (2012). No effects of monosodium glutamate consumption on the body weight or composition of adult rats and mice. *Physiology & Behavior*, 107(3), 338-345. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2012.07.006>
- Torii, K., Uneyama, H., & Nakamura, E. (2013). Physiological roles of dietary glutamate signaling via gut-brain axis due to efficient digestion and absorption. *Journal of Gastroenterology*, 48(4), 442. <https://doi.org/10.1007/S00535-013-0778-1>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9(1), 225-241. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2014.04.030>
- Tsai, P. J., & Huang, P. C. (1999). Circadian variations in plasma and erythrocyte concentrations of glutamate, glutamine, and alanine in men on a diet without and with added monosodium glutamate. *Metabolism*, 48(11), 1455-1460. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(99\)90159-2](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(99)90159-2)
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The human microbiome project. *Nature*, 449(7164), 804-810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>
- Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. (2023, 13 Ekim). Resmi Gazete (Sayı: 32338). Erişim Adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2023/10/20231013M1-1.htm>
- United States Office of the Federal Register. (1995). Code of Federal Regulations. US General Services Administration, National Archives and Records Service, Office of the Federal Register CFR - Code of Federal Regulations Title 21. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=101&showFR=1>
- Usui, Y., Kimura, Y., Satoh, T., Takemura, N., Ouchi, Y., Ohmiya, H., Kobayashi, K., Suzuki, H., Koyama, S., Hagiwara, S., Tanaka, H., Imoto, S., Eberl, G., Asami, Y., Fujimoto, K., & Uematsu, S. (2018). Effects of long-term intake of a yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038 and *Streptococcus thermophilus* 1131 on mice. *International immunology*, 30(7), 319-331. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXY035>
- Utume, L. N., Ansha, P. M., & Gave, T. A. (2020). The effects of orally administered monosodium glutamate (MSG) on the metabolic syndrome of adult albino rats. *Nigerian Annals of Pure and Applied Sciences*, 3(3a), 27-37. <https://doi.org/10.46912/napas.185>

- VanEvery, H., Franzosa, E. A., Nguyen, L. H., & Huttenhower, C. (2022). Microbiome epidemiology and association studies in human health. *Nature Reviews Genetics*, 24(2), 109-124. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00529-x>
- Vázquez, C., Botella-Carretero, J. I., García-Albiach, R., Pozuelo, M. J., Rodríguez-Baños, M., Baquero, F., Baltadjieva, M. A., & del Campo, R. (2013). Screening in a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* collection to select a strain able to survive to the human intestinal tract. *Nutricion hospitalaria*, 28(4), 1227-1235. <https://doi.org/10.3305/NH.2013.28.4.6540>
- Vijay, A., & Valdes, A. M. (2022). Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 76(4), 489. <https://doi.org/10.1038/S41430-021-00991-6>
- Viswanatha Swamy, A. H. M., Patel, N. L., Gadad, P. C., Koti, B. C., Patel, U. M., Thippeswamy, A. H. M., & Manjula, D. V. (2013). Neuroprotective activity of pongamia pinnata in monosodium glutamate-induced neurotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(6), 657. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24591740>
- Vodnar, D. C., Socaciu, C., Rotar, A. M., & Stănilă, A. (2010). Morphology, FTIR fingerprint and survivability of encapsulated lactic bacteria (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) in simulated gastric juice and intestinal juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(11), 2345-2351. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2010.02406.X>
- Walker, R., & Lupien, J. R. (2000). The safety evaluation of monosodium glutamate. *The Journal of Nutrition*, 130(4), 1049S-1052S. <https://doi.org/10.1093/JN/130.4.1049S>
- Wang, J., Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., Liang, S., Zhang, W., Guan, Y., Shen, D., Peng, Y., Zhang, D., Jie, Z., Wu, W., Qin, Y., Xue, W., Li, J., Han, L., & Wang, J. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490(7418), 55-60. <https://doi.org/10.1038/NATURE11450>
- Weil, Z. M., Norman, G. J., DeVries, A. C., & Nelson, R. J. (2008). The injured nervous system: A Darwinian perspective. *Progress in Neurobiology*, 86(1), 48-59. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2008.06.001>
- Allen, L., de Benoist, B., Dary, O. & Hurrell, R. (2006). *Guidelines on Food Fortification with Micronutrients*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Food and Agriculture Organization.
- Wu, G. (1998). Intestinal mucosal amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*, 128(8), 1249-1252. <https://doi.org/10.1093/JN/128.8.1249>
- Wu, S., Jiang, P., Zhao, X. M., & Chen, W. H. (2021). Treatment regimens may compromise gut-microbiome-derived signatures for liver cirrhosis. *Cell Metabolism*, 33(3), 455-456. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.02.012>
- Xu, J., Tang, M., Liu, Y., Xu, J., & Xu, X. (2022). Safety assessment of monosodium glutamate based on intestinal function and flora in mice. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.016>

- 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), 1331-1340. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05315/-/DC1>
- Zanfirescu, A., Ungurianu, A., Tsatsakis, A. M., Nițulescu, G. M., Kouretas, D., Veskoukis, A., Tsoukalas, D., Engin, A. B., Aschner, M., & Margină, D. (2019). A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1111-1134. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12448>
- Zhang, J., Sun-Waterhouse, D., Su, G., & Zhao, M. (2019). New insight into umami receptor, umami/umami-enhancing peptides and their derivatives: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 429-438. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.04.008>
- Zhang, Y., Venkitasamy, C., Pan, Z., Liu, W., & Zhao, L. (2017). Novel umami ingredients: umami peptides and their taste. *Journal of Food Science*, 82(1), 16-23. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13576>
- Zhang, Y., Zhang, L., Venkitasamy, C., Pan, Z., Ke, H., Guo, S., Wu, D., Wu, W., & Zhao, L. (2020). Potential effects of umami ingredients on human health: pros and cons. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(13), 2294-2302. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1633995>

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Kararı



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

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 13/04/2022
TOPLANTI NO : 2022-8
DOSYA NO : 2022-44
KARAR NO : 2022-8-81

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Alev KESER'in yaptığı; araştırmacı olarak Özlem ÇETİNER, Veli Cengiz ÖZALP, Ali Doğan DURSUN, Murat KAVRUK, Tuğçe NUR BALCI ve Emre DUMAN'ın katıldığı "Monosodyum glutamatın yavru sıçan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi ve muhtemel etkilerinin Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ile sağaltımı" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 30/03/2022 tarihli toplantısında alınan 2022-7-67 sayılı kararı uyarınca düzeltilmiş şekli ile yeniden değerlendirilmiş ve söz konusu çalışmanın Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi" ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasının uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 64
Geçerlilik Süresi : 20/04/2022-20/04/2023

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

Adres: [Redacted] Tel: [Redacted]

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

Ek 2. Etik Kurul Uzatma Onay Kararı



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

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 05/04/2023
TOPLANTI NO : 2023-7
DOSYA NO : 2022-44
KARAR NO : 2023-7-64

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Alev KESER'in yaptığı; araştırmacı olarak Özlem ÇETİNER, Veli Cengiz ÖZALP, Ali Doğan DURSUN, Murat KAVRUK, Tuğçe NUR BALCI ve Emre DUMAN'ın katıldığı "Monosodyum glutamatın yavru sıçan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi ve muhtemel etkilerinin Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ile sağaltımı" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 13.04.2022 tarihli toplantısında alınan 2022-8-81 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Proje Yürütücüsü tarafından Kurulumuza verilen 24.03.2023 tarih ve 232334 sayılı dilekçede, projenin henüz tamamlanmaması gerekçesiyle Etik Kurul izninin bir yıl süreyle uzatılması talep edilmektedir.

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

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

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

Adres: [Redacted] Tel: [Redacted]

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