



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

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİ İLE BESLENEN
SIÇANLARIN FEÇES ÖRNEKLERİNDE ORGANİK ASİT
DÜZEYLERİ VE KEFİR ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

TUĞBA DOLU

FARMAKOLOJİ (ECZ.) ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2022



**YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİ İLE BESLENEN SIÇANLARIN FEÇES
ÖRNEKLERİNDE ORGANİK ASİT DÜZEYLERİ VE KEFİR ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Tuğba DOLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOLOJİ (ECZ.) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Tuğba DOLU

../07/2022

YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİ İLE BESLENEN SIÇANLARIN FEÇES
ÖRNEKLERİNDE ORGANİK ASİT DÜZEYLERİ VE KEFİR ETKİSİNİN
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Tuğba DOLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Temmuz 2022

ÖZET

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda fruktozun neden olduğu metabolik sendrom tablosunda fekal mikrobiyotanın değiştiği saptanmıştır. Ancak fekal mikrobiyotanın metabolizması sonucu oluşan organik asit düzeylerinin fruktozun oluşturduğu metabolik sendromda önemi bilinmemektedir. Bu çalışmada, fruktoz metabolizması ile metabolik sendromun gelişimi arasındaki moleküler bağlantıların anlaşılabilmesi için yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde bazı organik asitlerin düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Ayrıca kefir takviyesinin etkisi de incelenmiştir. Sıçanlara 15 hafta süreyle içme suyu içerisinde %20'lik fruktoz solüsyonu verilmiştir. Fruktoz verilen bir grup sıçana kefir (1 ml/100 g), son altı hafta boyunca günde bir kez gastrik gavaj yoluyla uygulanmıştır. Feçes örneklerinde organik asit miktarları LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Yüksek fruktoz diyeti ile beslenen sıçanların feçeslerinde; 2-OH-fenilasetik asit, 3- fenillaktik asit, fumarik asit, homogentisik asit, 4-OH-fenillaktik asit, 2-OH-glutarik asit, sitrik asit, glutakonik asit düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Kefir takviyesi, yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda glutakonik asit ve etilmalonik asit düzeylerinde anlamlı artışa neden olmuştur. Bu tez çalışmasının bulguları, yüksek fruktoz diyetinin sıçanların feçes örneklerinde bazı organik asitlerin düzeyinde anlamlı azalmalar oluşturduğunu göstermektedir. Bu değişimlerin, fruktozun neden olduğu metabolik sendrom tablosunda patogeneze neden olan biyokimyasal yolların ve potansiyel biyobelirteçlerin tanımlanmasında önemli olabileceği ve ileri çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir. Kefir takviyesinin organik asit düzeyinde oluşturduğu değişiklikler metabolik sendrom tedavisinde önemli olabilir.

Bilim Kodu : 1018.1
Anahtar Kelimeler : Fruktoz diyeti, feçes, organik asit, kefir
Sayfa Adedi : 85
Danışman : Prof. Dr. Fatma AKAR

INVESTIGATION OF ORGANIC ACID LEVELS IN FECAL SAMPLES OF RATS FED
WITH HIGH FRUCTOSE DIET: EFFECTS OF KEFIR

(M. Sc. Thesis)

Tuğba DOLU

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

July 2022

ABSTRACT

In studies performed on experimental animals, it was determined that the fecal microbiota has changed in the fructose-induced metabolic syndrome. However, organic acid production due to metabolism of fecal microbiota is not determined in fructose-induced metabolic syndrome. In this study, we aimed to measure the levels of certain organic acids in fecal samples of rats fed a high-fructose diet to understand the molecular links between fructose metabolism and the development of metabolic syndrome. The effect of kefir supplementation was also examined. Rats were given 20% fructose solution in drinking water for 15 weeks. Kefir (1 ml/100 g body weight) was administered by gastric gavage once daily for the last six weeks. Organic acid amounts in the fecal samples were analyzed by using LC-MS/MS. The decreased levels of 2-OH-phenylacetic acid, 3-phenyllactic acid, fumaric acid, homogentisic acid, 4-OH-phenyllactic acid, 2-OH-glutaric acid, citric acid and glutaconic acid were measured in the feces of high-fructose fed rats. Kefir supplementation caused a significant increase in glutaconic acid and ethylmalonic acid levels in the feces of high-fructose fed rats. The findings of this thesis show that high-fructose diet decreased the level of certain organic acids in the fecal samples of rats. These changes could be important in understanding of the biochemical pathways and potential biomarkers in the metabolic syndrome induced by fructose as well as planning for further studies. Also, the alteration in the organic acid levels produced by kefir supplementation could be important in the treatment of metabolic syndrome.

Science Code : 1018.1
Key Words : Dietary fructose, feces, organic acid, kefir
Page Number : 85
Supervisor : Prof. Dr. Fatma AKAR

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan, bilimsel çalışma prensibini ve düzenini her zaman örnek aldığım kıymetli hocam Prof. Dr. Fatma AKAR'a en içten teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım ve deney sürecimde yardım ve desteğini hiç esirgemeyen Öğr. Gör. Ayhan İbrahim AYSAL ve Ecz. Ceren GÜNEY'e, özellikle lisans eğitimimde Farmakoloji Ana Bilim Dalı'nda yaptığım staj dönemimde değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşan Dr. Ecz. Esra ŞUMLU ve Dr. Ecz. Onur Gökhan YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Laboratuvar imkanları konusunda teknik destekleri için Sem Laboratuvar Cihazları Pazarlama San. ve Tic. A.Ş., firmasına, Dr. Murat Emrah MAVİŞ'e ve Sabri ERŞEN'e teşekkür ederim.

Desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olan ve güç veren Dr. İbrahim Muaz YARADILMIŞ'a, Dr. Ecz. İrem KARAÖMERLİOĞLU'na, mesai arkadaşlarıma ve dostlarıma gönülden teşekkür ederim.

Doğduğum günden bugüne evlatları olmaktan gurur duyduğum anneciğime ve babacığım; her koşulda güçlü olmamı ve ayakta kalmamı sağladıkları, mücadele etmeyi ve çabalayarak başarmayı öğrettikleri, desteklerini hep kalbimde hissettirdikleri için minnetlerimi sunarım. Hayatımın her anında elini omzumdan eksik etmeyen ağabeyime teşekkür ederim. Tezimi kıymetli aileme ithaf ederim.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından 02/2018-14 proje numarası ile desteklenmiştir. Yüksek lisans tez çalışmamı destekledikleri için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fruktoz	3
2.1.1. Fruktozun kimyasal yapısı	4
2.1.2. Fruktozun absorpsiyonu	5
2.1.3. Fruktozun metabolizması.....	6
2.2. Metabolik Sendrom	12
2.3. Fruktoz-Metabolik Sendrom İlişkisi	14
2.4. Bağırsak Mikrobiyotası.....	14
2.4.1. Bağırsak mikrobiyota bileşimi	15
2.4.2. Bağırsak mikrobiyotası-metabolik sendrom ilişkisi	15
2.4.3. Yüksek fruktoz diyetinin bağırsak mikrobiyotasına etkisi	16
2.4.4. Bağırsak mikrobiyotası-feçes metabolit ilişkisi.....	17
2.4.5. Yüksek fruktoz diyetinin bağırsak metabolitlerine etkisi	20
2.5. Fermente Gıdalar, İçerikleri ve Sağlık Etkileri	23
2.6. Kefir	24
2.6.1. Kefirin sağlık üzerine etkileri ve deneysel çalışmalar	24

	Sayfa
2.6.2. Kefirle ilgili klinik çalışmalar	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Deney Hayvanları ve Diyet	27
3.2. Kimyasal Maddeler	28
3.2.1. Kullanılan çözeltiler	28
3.3. Araç ve Gereçler	29
3.4. Yöntemler.....	29
3.4.1. Feçeste organik asit analiz yöntemi	29
3.4.2. İstatistiksel analiz:.....	31
4. BULGULAR	33
4.1. Feçeste Organik Asitlerin LC/MS-MS ile Analizi	33
4.1.1. Feçeste 2-OH-fenilasetik asit düzeyi	34
4.1.2. Feçeste 3-fenillaktik asit düzeyi.....	34
4.1.3. Feçeste fumarik asit düzeyi.....	35
4.1.4. Feçeste glikolik asit düzeyi	36
4.1.5. Feçeste homogentisik asit düzeyi.....	36
4.1.6. Feçeste 4-OH-fenillaktik asit düzeyi.....	37
4.1.7. Feçeste 2-OH-izovalerik asit düzeyi	38
4.1.8. Feçeste 2-OH-glutarik asit düzeyi.....	38
4.1.9. Feçeste 3-OH-izovalerik asit düzeyi	39
4.1.10. Feçeste 3-OH-propanoik asit düzeyi.....	40
4.1.11. Feçeste adipik asit düzeyi	40
4.1.12. Feçeste sitrik asit düzeyi	41
4.1.13. Feçeste etilmalonik asit düzeyi	42
4.1.14. Feçeste glutakonik asit düzeyi	42
4.1.15. Feçeste laktik asit düzeyi	43

	Sayfa
4.1.16. Feçeste süksinik asit düzeyi	44
4.1.17. Feçeste 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyi	44
4.1.18. Feçeste 3-metilglutakonik asit düzeyi.....	45
4.1.19. Feçeste malik asit düzeyi	46
4.1.21. Feçeste N-asetiltirozin düzeyi.....	47
4.1.22. Feçeste oksoprolin düzeyi.....	48
4.1.23. Feçeste sebasik asit düzeyi.....	48
4.1.24. Feçeste suberik asit düzeyi.....	49
4.1.25. Feçeste 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyi.....	50
4.1.26. Feçeste 2-OH-izokaproik asit düzeyi	50
4.1.27. Feçeste 3-OH-glutarik asit düzeyi.....	51
4.1.28. Feçeste 3-OH-pentanoik asit düzeyi	52
4.1.29. Feçeste glutarik asit düzeyi	52
4.1.30. Feçeste metilmalonik asit düzeyi	53
4.1.31. Feçeste pirüvik asit düzeyi	54
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	63
EKLER.....	75
EK-1. Etik Kurul izin belgesi.....	76
EK-2. Agilent 6465B LC-MS/MS Cihazı Validasyon Parametreleri (ölçülen organik asitler için).....	78
EK-3. Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri	79
EK-4. Ölçüm sonuçları	84
ÖZGEÇMİŞ	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı ölçütleri.....	13



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Glukoz ve fruktozun kimyasal yapıları.....	5
Şekil 2.2. İnce bağırsak epitelinde fruktoz ve glukoz absorpsiyonu	6
Şekil 2.3. Glukoz ve fruktoz metabolizması.....	8
Şekil 2.4. Krebs döngüsü	9
Şekil 2.5. De-novo lipogenez.....	10
Şekil 2.6. Bağırsak mikrobiyotası ve visseral yağlanma ile ilişkili metabolitler.....	20
Şekil 4.1. Sıçanların feçes 2-OH-fenilasetik asit düzeyleri	34
Şekil 4.2. Sıçanların feçes 3-fenillaktik asit düzeyleri.....	35
Şekil 4.3. Sıçanların feçes fumarik asit düzeyleri.....	35
Şekil 4.4. Sıçanların feçes glikolik asit düzeyleri	36
Şekil 4.5. Sıçanların feçes homogentisik asit düzeyleri.....	37
Şekil 4.6. Sıçanların feçes 4-OH-fenillaktik asit düzeyleri.....	37
Şekil 4.7. Sıçanların feçes 2-OH-izovalerik asit düzeyleri	38
Şekil 4.8. Sıçanların feçes 2-OH-glutarik asit düzeyleri.....	39
Şekil 4.9. Sıçanların feçes 3-OH-izovalerik asit düzeyleri	39
Şekil 4.10. Sıçanların feçes 3-OH-propanoik asit düzeyleri.....	40
Şekil 4.11. Sıçanların feçes adipik asit düzeyleri	41
Şekil 4.12. Sıçanların feçes sitrik asit düzeyleri	41
Şekil 4.13. Sıçanların feçes etilmalonik asit düzeyleri	42
Şekil 4.14. Sıçanların feçes glutakonik asit düzeyleri	43
Şekil 4.15. Sıçanların feçes laktik asit düzeyleri	43
Şekil 4.16. Sıçanların feçes süksinik asit düzeyleri	44
Şekil 4.17. Sıçanların feçes 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyleri	45
Şekil 4.18. Sıçanların feçes 3-metilglutakonik asit düzeyleri.....	45
Şekil 4.19. Sıçanların feçes malik asit düzeyleri	46

Şekil	Sayfa
Şekil 4.20. Sıçanların feçes N-asetilaspartik asit düzeyleri	47
Şekil 4.21. Sıçanların feçes N-asetiltirozin düzeyleri	47
Şekil 4.22. Sıçanların feçes oksoprolin düzeyleri	48
Şekil 4.23. Sıçanların feçes sebasik asit düzeyleri.....	49
Şekil 4.24. Sıçanların feçes suberik asit düzeyleri.....	49
Şekil 4.25. Sıçanların feçes 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyleri.....	50
Şekil 4.26. Sıçanların feçes 2-OH-izokaproik asit düzeyleri.....	51
Şekil 4.27. Sıçanların feçes 3-OH-glutarik asit düzeyleri.....	51
Şekil 4.28. Sıçanların feçes 3-OH-pentanoik asit düzeyleri	52
Şekil 4.29. Sıçanların feçes glutarik asit düzeyleri	53
Şekil 4.30. Sıçanların feçes metilmalonik asit düzeyleri	53
Şekil 4.31. Sıçanların feçes pirüvik asit düzeyleri	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

Çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
a/h	Ağırlık/hacim
g	Gram
kg	Kilogram
L/dak	Litre/dakika
μL	Mikrolitre
m/z	Kütle/yük
mg	Miligram
ml	Mililitre
ml/gün	Mililitre/gün
mg/dL	Miligram/desilitre
mg/kg	Miligram/kilogram
ml/kg	Mililitre/kilogram
mmol/L	Milimol/litre
mM	Milimolar
°C	Santigrat derece
V	Volt
%	Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
AMP	Adenosine monophosphate
ATP	Adenosine triphosphate
CCA	Canonical Correlation Analysis
CE-IVD	Conformity European In Vitro Diagnostic
DHAP	Dihydroxyacetone phosphate
DNL	De-novo lipogenez
ESI	Electrospray Ionization

Kısaltmalar	Açıklama
F-1-P	Fructose-1-Phosphate
F-2-P	Fructose-2-Phosphate
GC	Gaz Kromatografisi
GLP-1	Glucagon-Like peptide-1
GLP-2	Glucagon-Like peptide-2
GLUT	Fructose transporter
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IPA	Ingenuity Pathway Analysis
KHK	Ketohekzokinaz
LC	Likit Kromatografisi
LC-MS/MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry/Mass Spectrometry
LPS	Lipopolisakkarit
MS	Mass Spectrometry
NAFLD	Non-alcoholic Fatty Liver Disease
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
OTU	Operational Taxonomic Unit
PCA	Principal Component Analysis
PLS-DA	Partial Least-Squares Discriminant Analysis
ppm	Parts per million
psi	Pounds per square inch
QIIME	Quantitative Insights Into Microbial Ecology
SCFA	Short Chain Fatty Acids
SGLT-1	Sodium glucose kotransporter-1
TCA	Trikarboksilik asit
TMAO	Trimetilamin N-oksit
YFMŞ	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

1. GİRİŞ

Günlük diyet içerisinde toplam şeker ve özellikle fruktoz alımındaki fazlalığın obezite, dislipidemi, karaciğer yağlanması, hipertansiyon, insülin direnci ve diyabet dahil olmak üzere metabolik sendrom gelişimine neden olduğu bilinmektedir. Metabolik sendrom tanımları için kullanılan kriterler farklılık gösterdiğinden (WHO 1999, NCEP (National Cholesterol Education Program) ATP3 2005, IDF (International Diabetes Federation) 2006) prevalans tahminleri de değişmektedir (Saklayen, 2018). Fruktozdan zengin hazır gıdaların damak tadına uygunluğu, kolay erişilebilirliği, maliyetinin ekonomik olarak uygunluğu nedeniyle kullanımının artması ve metabolik sendromun görülme sıklığındaki artış arasındaki paralellik dikkat çekmektedir (Stanhope, 2016). Birçok deneysel ve klinik çalışmada yüksek fruktozun metabolik sendroma yol açtığı gösterilmiştir (Hannou ve diğerleri, 2018).

Diyet içeriğindeki yağ veya fruktoz içeriğinin değişimiyle bağırsak mikrobiyotası bileşiminin farklılaşabileceği birçok insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (Akar ve diğerleri, 2021; Lambertz ve diğerleri, 2017; Volynets ve diğerleri, 2017). Konuyla ilgili araştırmalarda, diyet içeriği ve yaşam tarzı değişikliğine bağlı olarak mikrobiyota içeriğinin farklılaştığı saptanmıştır. Mikrobiyota içeriğindeki bu değişimin metabolik sendrom dahil birçok hastalığın gelişiminde önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. Araştırmalar, diyet içeriğindeki probiyotik ve prebiyotik bileşenlerin sağlığın sürdürülmesinde önemli besin faktörleri olduğunu göstermektedir.

Bağırsak mikrobiyotasındaki organizmalar ve metabolitleriyle konakçı arasında bir etkileşim olduğu kabul edilmektedir. Teknolojinin gelişmesiyle insanların metabolomik profili çıkarılmakta ve hastalıkların oluşumuyla metabolitler arasında bir ilişki kurulmaya çalışılmaktadır. Feçesteki metabolit analizi, mikrobiyota aktivitesinin yansıması olarak kabul edilebilir (Marcobal ve diğerleri, 2013). Metabolik sendrom gelişiminde feçes metabolit içeriğindeki değişimlerin incelenmesi, tedavi açısından yararlı olabilir. Yüksek fruktozla beslenmenin sıçanların fekal metabolomuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, feçeste kısa zincirli yağ asitleri, gliseraldehit, gliserol, D-piroglutamik asit, L-piroglutamik asit, 5-aminovaleik asit gibi metabolitlerin miktarlarında önemli derecede değişiklik olduğu gösterilmiştir (Wei ve diğerleri, 2015). Yapılan bir çalışmada, fruktoz diyetiyle beslenen farelerde işaretli fruktozun glukoz, gliserat ve bazı organik asitlere dönüştüğü gösterilmiştir

(Jang ve diğerkleri, 2018). Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerin feçes örneklerinde yapılan başka bir çalışmada ise, fekal organik asitler ve amino asitlerin düzeyinde önemli değışiklikler olduğı saptanmıştır (Silva ve diğerkleri, 2018). Bağırsak mikrobiyotası, diyet bileşenlerinin metabolizmasına, fermentasyonuna, dolayısıyla da metabolitlerin üretimine katkıda bulunduğundan, feçesteki metabolitlerin incelenmesi önemli bulunmuştur. Bu değışikliklerin, yüksek fruktoz alımıyla diyabet ve yağlı karaciğer hastalığı gibi hastalıkların başlangıcındaki biyokimyasal yolağın aydınlatılmasında önemli olduğı görölmektedir.

Son yıllarda, probiyotikler ile bağırsak mikrobiyotasının güçlendirilmesinin yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda bazı sağık parametrelerini iyileştirebileceğı gösterilmiştir (Sumlu ve diğerkleri, 2022; Yildirim ve diğerkleri, 2020). Kefir, fermente bir süt ürünüdür ve metabolik sendrom semptomlarında düzelme sağladığı sınırlı sayıda hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir (Akar ve diğerkleri, 2021; Bellikci-Koyu ve diğerkleri, 2019; Rosa ve diğerkleri, 2016). Bu bulgulardan hareketle, kefirin potansiyel ve ucuz bir alternatif olarak metabolik sendrom tedavisine yardımcı olması öngörülebilir.

Bu tez çalışmasında, fruktoz tüketimiyle metabolik sendromun gelişimi arasındaki bağlantıların aydınlatılabilmesi için feçesteki bazı organik asitlerin yüksek fruktoz diyetinden sonraki düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, yeni bir tedavi alternatifi olabileceğı görüşü ile kefir takviyesinin de feçesteki organik asit düzeylerine etkisi incelenmiştir. Belirtilen amaç kapsamında, feçes örneklerinde organik asit düzeylerinin değışimi LC-MS/MS yöntemi ile tayin edilerek değerkendirilmiştir. Yapılan literatür taramasında, yüksek fruktozun neden olduğı metabolik sendromda feçesteki birçok organik asit düzeyinin incelenmediğı görölmüştür. Bu çalışma, metabolik sendrom gelişimindeki yolakların aydınlatılabilmesi için mikrobiyota metaboliti olarak sentezlenen organik asitlerin katkısının anlaşılması açısından önemli olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fruktoz

Fruktoz, birçok meyve, sebze ve balda doğal monosakkarit olarak; sakkaroz yapısında ise glukozla birlikte disakkarit olarak bulunan 6 karbonlu keton yapısında bir şekerdir. Günümüz gıdalarında önemli bir şeker olan yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMŞ), gıdaların raf ömrünün uzatılması ve enerji içeriğine katkıda bulunduğu gibi lezzet ve uygun doku da sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. (Keim ve diğerleri, 2015).

Diyette aldığımız fruktozun temel kaynağı yiyecek ve içeceklere eklenen şekerlerdir. Günümüzde sakkaroz veya YFMŞ ile tatlandırılan alkolsüz içecekler, meyve suları, şekerlemeler, unlu mamüller yoluyla diyetle fruktozun alımı önemli ölçüde artmıştır (Softic ve diğerleri, 2016). YFMŞ, sakkarozla göre düşük maliyeti, yüksek hidrasyon özelliği, lezzeti ve rengi, stabilitesi gibi nedenlerden dolayı günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (White & Nicklas, 2016). Bununla birlikte YFMŞ'daki serbest monosakkaritlerin içeceklerde, unlu mamüllerde, şekerlemelerde daha iyi doku, renk ve kıvam sağladığı belirtilmiştir (Moeller ve diğerleri, 2009).

Fruktozun metabolize edilmesi için insülin gerekmediğinden 1960'lı yıllarda diyabetin tedavisinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Fruktoz, diyabet hastalarında kan glukozunu normal açlık seviyelerine göre dengeleyerek, aşırı aseton üretimini engelleyerek, azot dengesini geri kazandırarak ve su kaybını azaltarak kullanışlı bir terapötik ajan olarak tanımlanmıştır (Moorhouse & Kark, 1957). Benzer şekilde diyabetik ketozis hastalarının tedavisinde intravenöz fruktoz uygulanmıştır (Nabarro ve diğerleri, 1955).

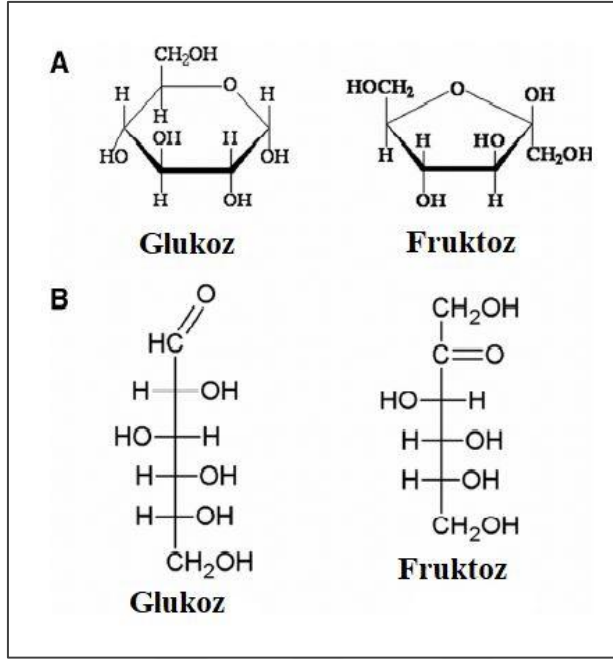
YFMŞ, mısırdaki nişastanın α -amilaz ve glukozamilaz kullanılarak glukozla hidroliz edilmesiyle üretilmektedir. Hidroliz esnasında glukoz ve fruktoz karışımı verecek şekilde glukoz izomeraz ile işleme tabii tutulmaktadır. Bu işlem sonucunda tipik olarak %42 fruktoz, %50 glukoz ve %8 diğer şekerlerden oluşan bir YFMŞ (%42'lik) üretilmektedir. Fraksiyonlama ile %90 fruktoz içeren konsantre YFMŞ (%90'lık) da izole edilebilmektedir. %42'lik ve %90'lık YFMŞ harmanlanarak %50'lik YFMŞ üretilmektedir. %55'lik ve %42'lik YFMŞ, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve birçok ülkede meşrubat endüstrisi tarafından en yaygın kullanılan tatlandırıcılardandır (Keim ve diğerleri, 2015).

Şekerle tatlandırılmış içeceklerin standart bir tanımı bulunmamaktadır. Bu içecekler, sakkaroz, YFMŞ veya yapay tatlandırıcı içeren meyve suyu konsantreleri eklenmiş içecekler olarak bilinmektedir. Yetişkinlerde şekerle tatlandırılmış içeceklerin tüketimiyle ilgili 187 ülkede yapılan çalışma sonucu orta gelirli ülkelerde, yüksek gelirli ve düşük gelirli ülkelere göre tüketim oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır (Singh ve diğerleri, 2015). Özellikle son yıllarda sedanter yaşam koşullarına ek olarak şekerle tatlandırılmış içeceklere erişim kolaylığı ve tüketimin artması, obezitenin ve kronik hastalıkların görülme sıklığının artmasına neden olmuştur. Gıda içeriğinde YFMŞ kullanan ülkelerde obeziteden bağımsız olarak tip 2 diyabet görülme prevalansı %20 daha yüksek bulunmuştur (Goran ve diğerleri, 2013). Bu nedenle ülkelerin özellikle YFMŞ içeren işlenmiş gıdaların tüketimini azaltmaya yönelik tedbirleri büyük önem taşımaktadır (Malik & Hu, 2022). Paketli gıdaların ambalajlarında içerik bilgisi net verilmediğinden, tüketicilerin bilinçli seçimler yapmasına yönlendirmek için paketli gıdalardaki etiketlendirme sisteminin düzenlenmesi gerekmektedir (Muller & Ruffieux, 2020).

2.1.1. Fruktozun kimyasal yapısı

Fruktoz ile glukoz aynı kimyasal formüle ($C_6H_{12}O_6$) sahip olmalarına rağmen konfigürasyonları farklılık göstermektedir. Glukoz aldehit yapıda, fruktoz ise keton yapıdadır. Bu durum absorpsiyon ve metabolizma yollarını etkilemektedir.

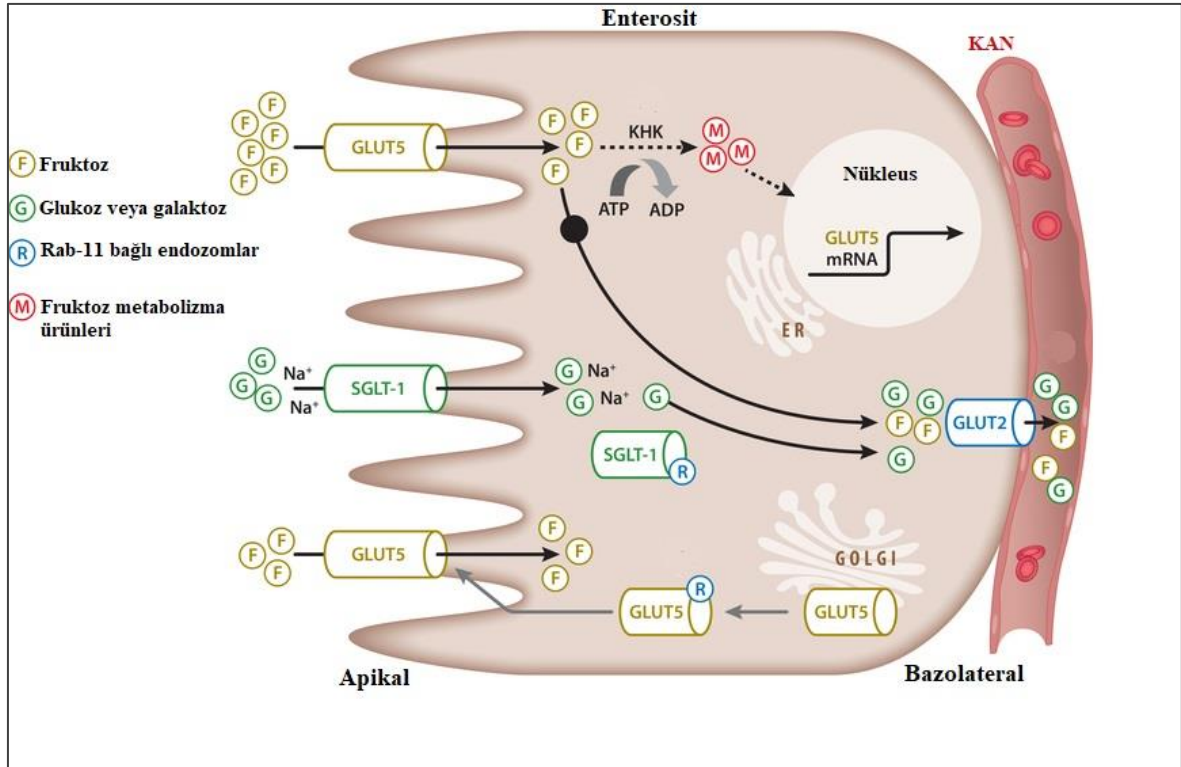
Fruktoz ve glukozun kimyasal yapısı Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Glukoz ve fruktozun kimyasal yapıları

2.1.2. Fruktozun absorpsiyonu

Diyetteki fruktoz hem basit monosakkarit olarak hem de disakkarit sakkarozun parçası olarak alınmaktadır. Sakkaroz, sakkaraz enzimiyle bağırsak fırçamsı yüzeyinde hidroliz edilerek bir molekül glukoz ve bir molekül fruktoza parçalanmaktadır. Glukoz, sodyum glukoz kotransporter (SGLT-1) aracılığıyla bağırsak fırçamsı yüzeyden absorbe olmakta ve portal dolaşım yoluyla karaciğere ulaşmaktadır (Patel ve diğerleri, 2015). Fruktoz absorpsiyonu ise fruktoza özgü heksoz taşıyıcısı GLUT (fructose transporter) 5 aracılığıyla kolaylaştırılmış difüzyonla gerçekleştirilmektedir. (Keim ve diğerleri, 2015). Ayrıca GLUT5'in ekspresyonu, luminal fruktoz konsantrasyonunun artışıyla yükselmektedir. Luminal fruktoz konsantrasyonu yüksekliğinde fruktoz ve metabolitleri, GLUT5'in transkripsiyonunu, translasyonunu ve ayrıca fruktolitik enzimleri uyarmaktadır. GLUT5, Rab11a bağlı endozomlar yoluyla apikal membrana iletilmekte ve lümen fruktoz düzeyleri yüksek olduğunda transapikal fruktoz taşınmasını arttırmaktadır (Ferraris ve diğerleri, 2018). Enterositlere alınan fruktoz ve glukoz, bazolateral membranda yer alan GLUT2 aracılığıyla kan dolaşımına geçmektedir. Fruktoz ve glukoz absorpsiyonunun ince bağırsak enterositlerindeki şematik gösterimi Şekil 2.2'de yer almaktadır.



Şekil 2.2. İnce bağırsak epitelinde fruktoz ve glukoz absorpsiyonu (Ferraris ve diğerleri, 2018) (Kısaltmalar: ER, endoplazmik retikulum; GLUT, kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcısı; KHK, ketoheksokinaz; Rab11a, Ras ile ilişkili protein 11a; SGLT-1, sodium glucose transporter-1)

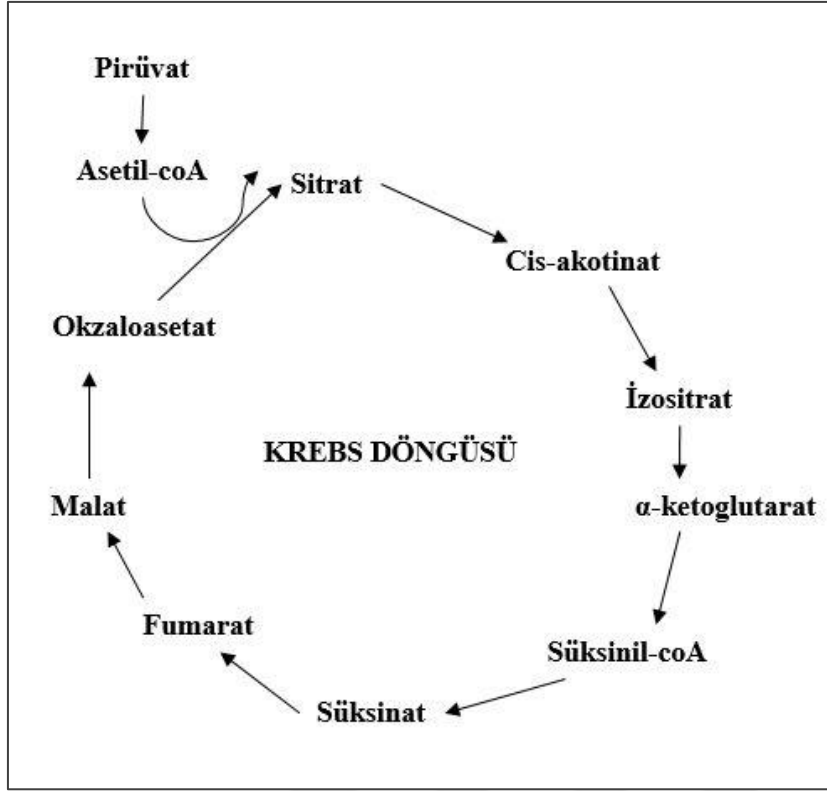
2.1.3. Fruktozun metabolizması

Glukoz metabolizması, glukozun 6. karbonu pozisyonunda fosforilasyonu, ardından tersinir izomerizasyonu ile fruktoz-6-fosfata (F-6-P) dönüşmesiyle başlayan glukoliz sürecinde gerçekleşmektedir. F-6-P, fosfofruktokinaz-2 enzimi ile fruktoz 2,6 bifosfata dönüşmektedir (Elliott ve diğerleri, 2002). İnsülin, glukagon ve adrenalın hormonlarının fosfofruktokinaz-2 enzimini fosforilleyerek glukolizi kontrol edebildiği bilinmektedir (Heinz ve diğerleri, 1968).

Memelilerde fruktoz fosforilasyonu, ketoheksokinaz (KHK) enzimi tarafından katalize edilerek fruktozun 1. karbonu konumunda gerçekleşmektedir. Fruktoz-1-fosfat (F-1-P), doğrudan üç karbon birimine bölünebildiğinden ilk fosforilasyonun glukozla farklı karbonlardan gerçekleşmesi çok önemli bir fark olarak tespit edilmiştir (Mayes, 1993). Glukoz metabolizması sırasında açığa çıkan F-6-P, böyle bir işlemden önce fosfofruktokinaz enzimi tarafından 1. karbon konumunda fosforile edilmektedir. Fruktozun metabolizmasında KHK enzimiyle glukozdan farklı karbondan fosforile olarak glukolizdeki ilgili basamakları

atlaması, hormonal olarak düzenlenmesini bozmaktadır (Jang ve diğerleri, 2018). F-1-P, aldolaz B enzimi tarafından gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata (DHAP) dönüşmektedir (Mayes, 1993). Yani fruktoz metabolizması, glukoz metabolizmasından farklı olarak DHAP'a ek olarak, gliseraldehit formunda fosforile edilmemiş üç karbonlu bir birim üretmektedir (Heinz ve diğerleri, 1968). Son adımda ise gliseraldehit, trioz kinaz enzimi katalizörlüğünde adenosin trifosfat (ATP) tarafından fosforile edilerek gliseraldehit-3-fosfat oluşturmaktadır (Mayes, 1993). Fruktoz metabolizması Şekil 2.3'te şematize edilmiştir. Gliseraldehit-3-fosfat, trikarboksilik asit döngüsüne girerek ATP, asetil koenzim A, pirüvat ve laktat oluşturabildiği bildirilmektedir (Merino ve diğerleri, 2019).

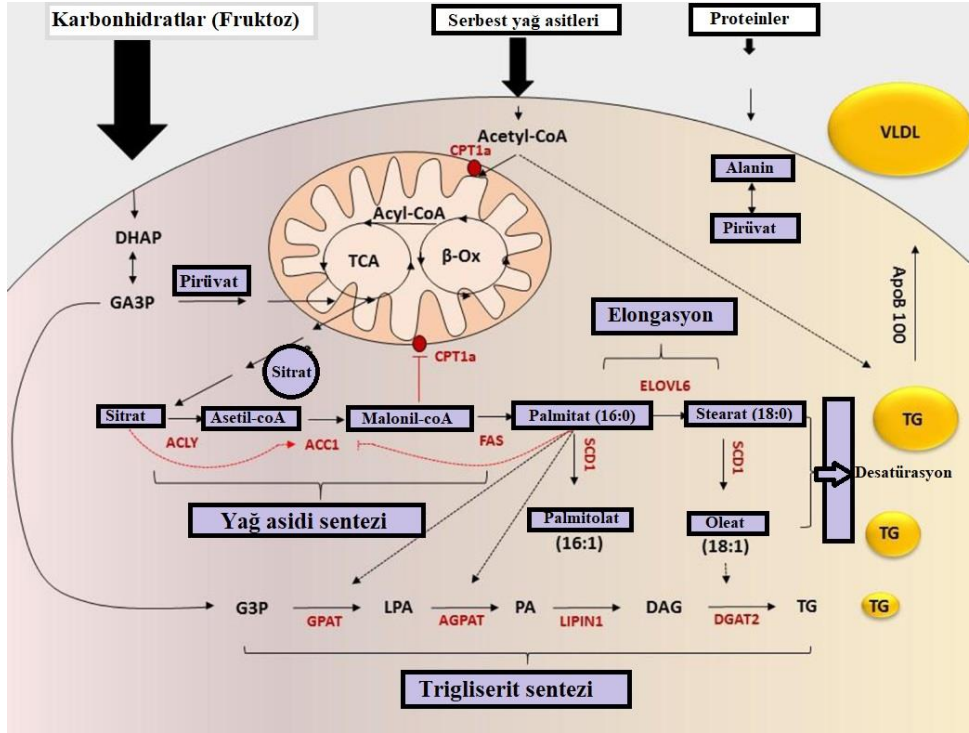
Fruktoz katabolizması (fruktoliz), glikolizden farklı olarak glikoliz ve glukoneogenezin fosfofruktokinaz ve fruktoz-1,6-bifosfataz olarak bilinen ana düzenleyici basamaklarını atlamakta ve negatif feed-back ile düzenlenmemektedir (Mayes, 1993; Underwood & Newsholme, 1965). Fruktoliz, nükleotitlerin ve nükleik asitlerin *de novo* sentezi için pentoz fosfat yolundan G-6-P ve F-6-P oluşumu basamaklarını atlamaktadır. Bu nedenle diyet içerisinde yüksek fruktoz alımında Khk enzimi aracılığıyla gerçekleşen fruktolizin, glukoneojenik ve lipogenik substratların (pirüvat, laktat, asetil-koenzim A ve gliserol-3-fosfat gibi) kaynağı olan gliseraldehit, DHAP ve gliseraldehit-3-fosfat üretiminde artışa ve dolayısıyla glukoneogenezis, glikojenezis ve lipogenezin artmasına yol açması beklenmektedir (Merino ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.4. Krebs döngüsü

De-novo lipogenez (DNL) üzerine fruktozun etkisi

De novo lipogenez (DNL), diyetteki fazla karbonhidratlardan yağ asitlerini sentezleyen metabolik yolak olarak tanımlanmıştır. Trigliseritler de enerji depolaması için ilgili yağ asitleri arasında olabilmektedir. Lipogenik yollarda düzensizlikler, vücutta lipit homestazının bozulması, viral enfeksiyonlar gibi etkenler DNL gelişimi etkileyebilmektedir (Ameer ve diğerleri, 2014). Bunlarla birlikte fruktoz, DNL üzerinde güçlü bir etkiye sahip bir monosakkarit olarak tanımlanmıştır (J. M. Schwarz ve diğerleri, 1994). Fruktozun DNL yolağına etkisinin şematik gösterimi Şekil 2.5.'te yer almaktadır.



Şekil 2.5. De-novo lipogenez (Softic ve diğerleri, 2016). (Kısaltmalar: ACC, Asetil-coA karboksilaz; ACL, ATP sitrat liyaz, AGPAT, 1-açilgliserol-3-fosfataçiltransferaz; DAG, 1,2-diaçilgliserol; DHAP, Dihidroksi asetonfosfat; DGAT, Diaçilgliserol açiltransferaz; ELOVL6, Çok uzun zincirli yağ asitlerinin elongasyonu; GA3P, Gliseraldehit-3-fosfat; G3P, Gliserol-3-fosfat; GPAT, Gliseraldehit-3-fosfat açiltransferaz; FAS, yağ asidi sentaz; LPA, Lizofosfatidik asit; LIPIN1, Lipin1; PA, fosfatidik asit; SCD1, stearil-coA desatüraz; TG, Trigliserit).

Aşırı kilolu ve obez deney hayvanlarına 10 hafta boyunca günlük kalori alımlarının %25'ini karşılayacak şekilde glukoz veya fruktozla tatlandırılmış içecekler verilmiştir. Deney sırasında her iki grupta da benzer kilo artışı görülmesine karşılık, sadece fruktozla beslenen hayvanlarda abdominal yağlanma, DNL gibi ölçütlerin belirgin ölçüde arttığı görülmüştür. Ayrıca çalışma sonucunda diyet fruktozunun DNL'yi arttırdığı, lipogenik genlerin ekspresyonundaki artışla dislipidemi gelişimini hızlandırdığı, insülin duyarlılığını azalttığı gösterilmiştir (Stanhope ve diğerleri, 2009). Başka bir çalışmada ise, sekiz sağlıklı erkeğe 9 günlük periyotlarda günlük kalori alımlarının %25'ini içecek şekilde yüksek fruktoz diyeti uygulanmış ve DNL gelişiminin daha yüksek olduğu saptanmıştır (J.-M. Schwarz ve diğerleri, 2015). Bu da kısa süreli dahi yüksek fruktoza maruz kalmanın akut ve güçlü bir şekilde lipogenik yolların aktivasyonu ile DNL gelişimini ve karaciğer yağlanmasını arttırabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz insülininden bağımsız bir şekilde yeni protein-kinaz C (PKC) izoformlarını aktive ederek ve NAFLD'nin ilerlemesini destekleyebilecek

lipit ara maddeleri üreterek insülin direncini indüklemektedir. Bu nedenle diyet modifikasyonları ile birlikte fruktoz metabolizması ve hepatik DNL yolağını hedefleyen farmakolojik tedaviler NAFLD'nın ilerlemesini yavaşlatabilmektedir (Softic ve diğerleri, 2016).

Fruktozun metabolik etkileri

Khk enzimi, fruktoz metabolizmasındaki ilk adımı katalize etmektedir (Herman & Samuel, 2016). Khk enzim aktivitesi ATP tarafından inhibe edilmemektedir (Adelman ve diğerleri, 1967). Fruktozdan türetilen trioz fosfatlar (DHAP ve gliseraldehit), fosfofruktokinazın distalindeki glikolitik yola girmektedir. Khk knock out farelerde yapılan çalışmada yüksek fruktozlu diyet sonucu enterosit GLUT5 ekspresyonundaki artışın azaldığı gözlenmiştir (Patel ve diğerleri, 2015). Khk enzimi, Khk-A ve Khk-C olmak üzere iki uçbirleştirme izoformuna sahiptir ve Khk-C, düşük K_m 'si nedeniyle ana fosforilasyon enzimi olarak bulunmuştur. Khk-C, bağırsak, karaciğer, böbrek ve pankreasta eksprese edilmektedir. Bununla birlikte, Khk knock out farelerde yapılan çalışmada kanda ve idrarda çok yüksek fruktoz düzeyleri gösterdiğinden Khk'nın fruktoz metabolizması için gerekli olduğu belirtilmiştir (Ishimoto ve diğerleri, 2012). Khk-C, karaciğerde en yüksek düzeyde eksprese edilmiştir. Yüksek fruktoz alımının karaciğer ile ilgili patolojilere neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Akar ve diğerleri, 2021; Lanasp ve diğerleri, 2013; D.-M. Zhang ve diğerleri, 2017). Ayrıca, fruktoz metabolizmasının diğer organlardaki rolünü inceleyen az çalışma olduğundan karaciğer, fruktoz metabolizmasının birincil bölgesi olarak ifade edilmektedir.

Fruktoz metabolizmasında görevli bir diğer enzim olan Aldolaz B, kronik fruktoza maruz kalma ile indüklenmektedir (Koo ve diğerleri, 2008). Aldolaz B knock out farelerde yapılan çalışmada farelerin düşük miktar fruktozla karşılaştıklarında bile mortalite ve belirgin karaciğer toksisitesi geliştirdikleri gözlemlenmiştir ve bu toksisitenin birikmiş F-1-P veya diğer metabolitlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Oppelt ve diğerleri, 2015). Bununla birlikte yüksek fruktoz konsantrasyonunda, Khk enzimiyle fosforilasyon hızlı gerçekleşmesine rağmen aldolaz B reaksiyonu yavaş olacağı için ortamda F-1-P birikmesi beklenmektedir. Biriken F-1-P, yağ asidi sentaz gibi lipogenik enzimleri uyarak trigliserit düzeyini arttırmaktadır. Fruktoz metabolizmasında fosfofruktokinaz basamağının atlanmasıyla, fruktozun aşırı tüketiminin ATP'yi kontrolsüz bir şekilde tüketmesi; enerji

yükünün azalmasına, AMP birikimine ve AMP deaminaz tarafından pürin tüketimine ve nihai ürik asit üretimine yol açması beklenmektedir (Johnson ve diğerleri, 2013). Khk enziminin yüksek fruktoz kaynaklı hızlı reaksiyon sonucu hücre içi fosfat ve ATP'yi tüketmesi, hepatositlerde AMP birikimine yol açmaktadır. Hücre içinde AMP artışı, AMP deaminazı aktive ederek pürin degradasyonu ve ürik asit oluşumuna sebep olmaktadır. Hücre içindeki ürik asit miktarındaki artış, Krebs döngüsünde sitratı izositrate çeviren akotinaz enzim aktivitesindeki düşüşle birlikte sitratın birikerek sitozole salınmasına neden olmaktadır (Borges ve diğerleri, 2010). Caliceti ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, fruktozla beslenme sonucunda hepatositlerde AMP deaminaz akışını aktive ettiği ve vücutta ürik asit düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (Caliceti ve diğerleri, 2017). Ürik asit düzeyindeki artış metabolik sendrom gelişiminde bir belirteç olarak kabul görmeye başlamıştır (Billiet ve diğerleri, 2014; Viazzi ve diğerleri, 2014). Sitratın sitozoldeki bu artışı, yağ asidi sentaz gibi enzimleri aktive ederek *de novo* trigliserit sentezi için substrat görevi görmektedir (Nakagawa ve diğerleri, 2006).

Akut yüksek fruktoz alımının, fruktoz karbonlarının lipogenik öncül moleküllere dönüşümü yoluyla lipid sentezine katkıda bulunduğu, kronik fruktoz alımının ise lipogenezi aktive ettiği ve bu kapasiteyi daha da arttırabileceği bilinmektedir. Yüksek fruktoz diyetiyle lipid sentezindeki bu artış arasındaki ilişki için farklı mekanizmalar öne sürülmektedir. Bunlardan biri yüksek fruktoza maruz kalma ile GLUT5'in up regülasyonu ve enterositlerin fruktozu absorbe etme kapasitesinin arttırılmasıdır. Böylece enterositlerde lipid sentezinin arttırılması beklenmektedir (Haidari ve diğerleri, 2002). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, karaciğerin yanı sıra ince bağırsağın da fruktoz metabolizmasında fonksiyonel rolleri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada düşük doz ve yüksek doz fruktozun metabolizmasının farklı olduğu, düşük doz fruktozun ince bağırsakta %90 oranında klerens edildiği, yüksek doz fruktozun önemli ölçüde (>%30) karaciğere geçtiği; bunun ise bağırsak fruktoz klerensinin doygunluğunu yansıttığı belirtilmektedir (Jang ve diğerleri, 2018).

2.2. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom, abdominal obezite, insülin direnci, dislipidemi ve arteriyel hipertansiyon gibi sonuçları olan patolojik bir durum olarak tanımlanmıştır (Alberti, 2009). Metabolik sendromun sebep olduğu bu durumlar Tip 2 Diyabetes Mellitus ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi için risk faktörü olarak bilinmektedir. 2010 yılında

yayımlanan bir meta-analiz çalışmasına göre, metabolik sendromlu bireylerde kardiyovasküler hastalık riskinin iki kat, tüm mortalite nedenlerinde bir buçuk kat artış saptanmıştır (Mottillo ve diğerleri, 2010). Ayrıca, metabolik sendromun proinflatuvar durum, protrombotik durum, NAFLD, kolesterol safra taşı hastalığı ve üreme bozuklukları dahil olmak üzere diğer komorbiditelerle de ilişkili olduğu bildirilmiştir (Grundy, 2004, 2016; Koster ve diğerleri, 2010; Stenholm ve diğerleri, 2010). Dünya çapında aşırı kilo ve obezite prevalansı son kırk yılda neredeyse üç katına çıkmıştır ve 21. yüzyılın en ciddi karşılanmamış halk sağlığı sorunlarından birini temsil etmektedir. Dünyanın dört bir yanından popülasyona dayalı çalışmalardan toplanmış tahminler 1975 ile 2016 yılları arasında obezite prevalansının çocuklarda <%1'den %6-8'e, erkeklerde %3'ten >%11'e ve kadınlarda %6'dan %15'e yükseldiğini bildirmektedir (Abarca-Gómez ve diğerleri, 2017). Metabolik sendrom, genetik faktörler, diyet, fiziksel aktivite, yaşam tarzı faktörleri ve çevresel faktörleri içeren çok faktörlü bir etiyolojiye sahiptir (Elder ve diğerleri, 2009; Stančáková & Laakso, 2014).

Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli 3 (NCEP ATP III), Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Amerikan Endokrinologları Birliği (AACE), Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından metabolik sendrom için farklı tanı ölçütleri önerilmiştir. Kriterlerin harmonizasyonu sonucu yapılan toplantı sonucu, Çizelge 2.1'de verilen metabolik sendrom için tanı ölçütleri belirlenmiştir. Bu beş ölçütten en az üçünün bir kişide bulunması, metabolik sendrom tanısı koymak için yeterli bulunmuştur.

Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı ölçütleri (Alberti, 2009)

Tanı Ölçütleri	Değerler
Plazma açlık glukoz düzeyinin artışı	≥ 100 mg/dL
Plazma trigliserit düzeyinin artışı	≥ 150 mg/dL (1.7 mmol/L)
Plazma HDL düzeyinin azalması	Erkeklerde: < 40 mg/dL (1.0 mmol/L); Kadınlarda: < 50 mg/dL (1.3 mmol/L)
Kan basıncının artması	Sistolik ≥ 130 ve/veya diyastolik ≥ 85 mm Hg
Bel çevresi	Erkeklerde ≥ 102 cm; Kadınlarda ≥ 88 cm

Farklı kuruluşların metabolik sendrom tanımları değişse de bu tanımlar abdominal obezite, dislipidemi, insülin direnci ve hipertansiyonu içermektedir. Tanımlardaki bireysel risk faktörlerinin tanımı ve sınırları değişiklik göstermektedir. Metabolik sendrom üzerinde çalışmalar yapıldıkça ek risk faktörleri ve veriler ortaya çıkmaktadır. Bu tanımlamalar

yapılırken bağırsak mikrobiyotası tamamen göz ardı edilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler metabolik sendrom risk faktörlerine yol açan mekanizmaların bağırsaktan kaynaklanabileceğini göstermiştir (Dabke ve diğerleri, 2019).

2.3. Fruktoz-Metabolik Sendrom İlişkisi

Metabolik sendrom, birçok sistemde bozukluktan oluşan karmaşık bir hastalıktır. Metabolik sendromun özelliklerini kapsayan birkaç sıçan modeli bulunmaktadır. Bazı modeller, metabolik sendromun altında yatan bir veya daha fazla özellik için seçilen aynı soydan ırklardır. Bu modellerin bir kısmı metabolik sendrom özellikleri için genetik risk taşıyan popülasyon modelleridir, diyet gibi çevresel faktörler tarafından indüklenir. Bir kısmı ise spontan monogenik mutant modellerdir veya bu modellerin bir kombinasyonundan türetilen konjenik ırklardır (Kwitek, 2019). Laboratuvarımızda ve diğer bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda deney hayvanlarının diyetine (%60-66) ya da içme suyuna (%10-30) eklenen saf fruktozun, 3. haftadan başlayarak; insülin rezistansı, hipertrigliseridemi, hipertansiyon ve karaciğer yağlanmasıyla karakterize metabolik sendrom tablosu oluşturduğu saptanmıştır (Ackerman ve diğerleri, 2005; Akar ve diğerleri, 2012; Babacanoglu ve diğerleri, 2013; Hwang ve diğerleri, 1987; Pektaş ve diğerleri, 2015; Reaven ve diğerleri, 1989; Sadi ve diğerleri, 2015; Verma ve diğerleri, 1994).

2.4. Bağırsak Mikrobiyotası

Bağırsak mikrobiyotası, insan bağırsak sisteminde yaşayan ve arkeler, bakteriler, mantarlar, helmintler ve diğerlerinden oluşan bir dizi mikroorganizmadan oluşmaktadır. Mikrobiyom ise mikrobiyotanın toplu genom içeriği olarak tanımlanmıştır (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2019). Sağlıklı bir yetişkin bireyde 10^{14} ten fazla mikroorganizmadan oluştuğu öne sürülmektedir (Thursby & Juge, 2017). Çocukluk döneminde bağırsak mikrobiyotasının oluşumunun, alerjiler, nörolojik bozukluklar ve obezite gibi insan hastalıklarının gelişiminde kilit bir faktör olduğuna inanılmaktadır, bu da sağlıklı bir yaşam için bağırsak mikrobiyotasının çok önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Milani ve diğerleri, 2017; Zhuang ve diğerleri, 2019). Bağırsakta aktif ve doğal mikroorganizma çeşitliliğinin olması sağlık durumunu iyileştirmektedir (Bell ve diğerleri, 2018). Yararlı bakteriler; enzimler, vitamin sentezinin artırılması ve besin maddelerinin korunması yoluyla besinleri daha

sindirilebilir hale getirmektedir. Ayrıca, tatlı isteklerini azaltmaya ve genel bağırsak sağlığına fayda sağlamaya yardımcı olmaktadır (Hashemi ve diğerleri, 2017).

2.4.1. Bağırsak mikrobiyota bileşimi

Dünya çapında öne çıkan morbidite ve mortalite nedeni olarak görülen obezite, diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalık gibi durumlarla bağırsak mikrobiyotası ilişkilendirilmiştir (de Vos & de Vos, 2012; Tilg ve diğerleri, 2018; L. Zhao, 2013). Bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı ve hastalıklarındaki rolüne açıklamak için İnsan Mikrobiyom Projesi (HMP) ve şu anda devam etmekte olan MyNewGut projesi dahil olmak üzere yeni çalışmalar başlatılmıştır (Chaplin ve diğerleri, 2018). Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyota bileşimini neyin oluşturduğu hâlâ tartışılrsa da, bireyin normal bağırsak mikrobiyotasının miktarında ve/veya bileşiminde bir bozulmaya işaret eden disbiyozisin birçok hastalıkla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir. *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* şubeleri insan bağırsak mikrobiyotasının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. *Firmicutes* şubesi mikrobiyotada en çeşitli bakteriyi içeren şube olarak tanımlanmıştır (Arumugam ve diğerleri, 2011). Kolonik mikrobiyota, *Firmicutes* (ağırlıklı olarak *Ruminococcaceae* ve *Lachnospiraceae*), *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* (*Akkermansia*)'nin ana filumları arasında dağıtılan binlerce tür ve milyonlarca gen dahil olmak üzere esas olarak anaerobik bakteriler tarafından yönetilmektedir (J. Li ve diğerleri, 2014; Zoetendal ve diğerleri, 2008).

2.4.2. Bağırsak mikrobiyotası-metabolik sendrom ilişkisi

Yağ ve fruktoz gibi diyet bileşenleri ile bağırsak mikrobiyotası bileşiminin değişebileceği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Lambertz ve diğerleri, 2017; Volynets ve diğerleri, 2017; Wei ve diğerleri, 2015). Lambertz ve arkadaşları tarafından hazırlanan derlemede, diyet içeriği ve yaşam tarzı ile mikrobiyota içeriğinin yüksek ölçüde etkilendiği ve metabolik hastalıklar için majör faktör olabileceği belirtilmiştir. Aynı çalışmada bağırsak mikrobiyotasının diyet lifleri, probiyotik ve prebiyotik içeriği ile zenginleştirilmesinin metabolik hastalıklar ve NAFLD'de etkili bir tedavi seçeneği olabileceği öne sürülmektedir. Bağırsak mikrobiyotası ile metabolik sendrom gelişiminde nedensel bir ilişki olduğunu öne süren çalışmalar bulunmaktadır (Turnbaugh ve diğerleri, 2006). Bağırsak mikrobiyotası dahil bütün mikroorganizmalarından arındırılmış aksenik farelerin geleneksel mikroflorayla

kolonizasyonu vücut ağırlığını hızla arttırmıştır (Backhed ve diğerleri, 2005). Aksenik fareler ve mikrobiyota transferi yapılmış farelerde yapılan benzer çalışmalar da monosakkaritlerin bağırsaktan emiliminde önemli rol oynadığını öne sürmektedir (Bäckhed ve diğerleri, 2007). Enerji metabolizmasının kontrolünde bağırsak mikroflorasının rolü, glukoz ve lipid metabolizmasında yer alan genlerin artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Bäckhed ve diğerleri, 2007). Araştırmacılar, bir lipoprotein lipaz inhibitörü olan Açlıkla İndüklenen Adiposit Faktörünün bağırsak mikroflorasının kontrolü altında salındığını belirlediler. Bu protein, daha sonra lipoprotein lipaz aktivitesini ve dolayısıyla lipoproteinlerden serbest yağ asitlerinin salınımını kontrol etmektedir.

Yüksek yağlı diyet uygulanan farelerde yapılan bir çalışmada, bağırsak lümen içeriğinin (gıda antijenleri, bakteriler, bakteriyel metabolitler) ve bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) geçişini kolaylaştıran intestinal bariyer hasarı olduğu görülmüştür. Metabolik sendromda düşük dereceli kronik inflamasyon durumu, bağırsak disbiyozunun bir sonucu olan metabolik endotoksemi ile açıklanmıştır (Burcelin ve diğerleri, 2009; Cani ve diğerleri, 2007). Metabolik hastalıkların gelişiminin erken döneminde bir tetikleyici faktör olarak önerilen plazma LPS'leri, insülin direncinin gelişiminin temel indükleyicileri olan birkaç sitokin salımının güçlü bir uyarıcısı olarak bulunmuştur (Cani ve diğerleri, 2007). Aynı çalışmada, yüksek yağlı beslenmenin neden olduğu plazma LPS konsantrasyonundaki artış, metabolik endotoksemiyle ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, hayvan ve insan çalışmalarında obezite ve insülin direnci gelişiminin bağırsak mikrobiyotasındaki *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Akar ve diğerleri, 2021; Indiani ve diğerleri, 2018; Jumpertz ve diğerleri, 2011). Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasının konakçı enerji metabolizması ve bağırsak bariyer bütünlüğü üzerindeki etkileri de gösterilmiştir. Bu kapsamda bağırsak mikrobiyotası, metabolik sendrom koşullarına katkıda bulunan risk faktörlerini değiştirmek için potansiyel hedef olarak önerilmiştir.

2.4.3. Yüksek fruktoz diyetinin bağırsak mikrobiyotasına etkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yüksek fruktoz diyetinin kolon mukus kalınlığını ve intestinal bariyer fonksiyonunu azalttığını, plazma LPS düzeylerini arttırdığını; buna bağlı olarak da bağırsak geçirgenliğini arttırdığını göstermiştir (Akar ve diğerleri, 2021; Montrose ve diğerleri, 2021; Volynets ve diğerleri, 2017). Yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin

kolon mukus kalınlığını azalması ve böylece kolon epiteline bakteriyel erişimin artması ile ilişkilendirilmiştir. Mukus yapısını bozduğu bilinen *Akkermansia muciniphila* bakterisinin ve kolitle ilişkilendirilen *Citrobacter rodentium* bakterisinin miktarının yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanlarda artışı ve yararlı bir bakteri türü olan *Lactobacillus johnsonii* ve *Bifidobacterium pseudolongum* gibi bakterilerin de miktarının azalması; bu diyetin bağırsak mikrobiyotasını konak aleyhine değiştirdiğini göstermektedir (Montrose ve diğerleri, 2021). Bununla birlikte diyet faktörleri bağırsak bakteri popülasyonlarının bileşimini etkiler, mikrobiyal besin kaynaklarıyla birlikte belirli bakteri türleri için az elverişli veya çok elverişli ortamlar sağladığı düşünülmektedir (Fujisaka ve diğerleri, 2018).

2.4.4. Bağırsak mikrobiyotası-feçes metabolit ilişkisi

Bağırsak mikrobiyotasındaki organizmalar ve metabolitleriyle konakçı arasında bir etkileşim olduğu kabul edilmektedir. Feçes metabolitleri, mikrobiyotanın bileşimini düzenleyen besin maddeleri (Oliphant & Allen-Vercoe, 2019) veya konakçı ve bakteri besin metabolizmasının yan ürünleri olabilir (M. Li ve diğerleri, 2008; Nicholson ve diğerleri, 2012). Feçesteki metabolit analizi, mikrobiyota aktivitesinin yansıması olarak kabul edilmektedir (Marcobal ve diğerleri, 2013). 16S ribozomal RNA (rRNA) sekanslamayla mikrobiyota profili çıkarılabilmesine rağmen, bu yöntem genlerin transkripsiyonel aktivitesini belirleyememektedir (Frias-Lopez ve diğerleri, 2008). Ancak feçes metabolomik analizi, konakçı, diyet ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki metabolik etkileşimi raporlamakta ve mikrobiyoma sekanslama temelli yaklaşımlar sunmaktadır (Marcobal ve diğerleri, 2013).

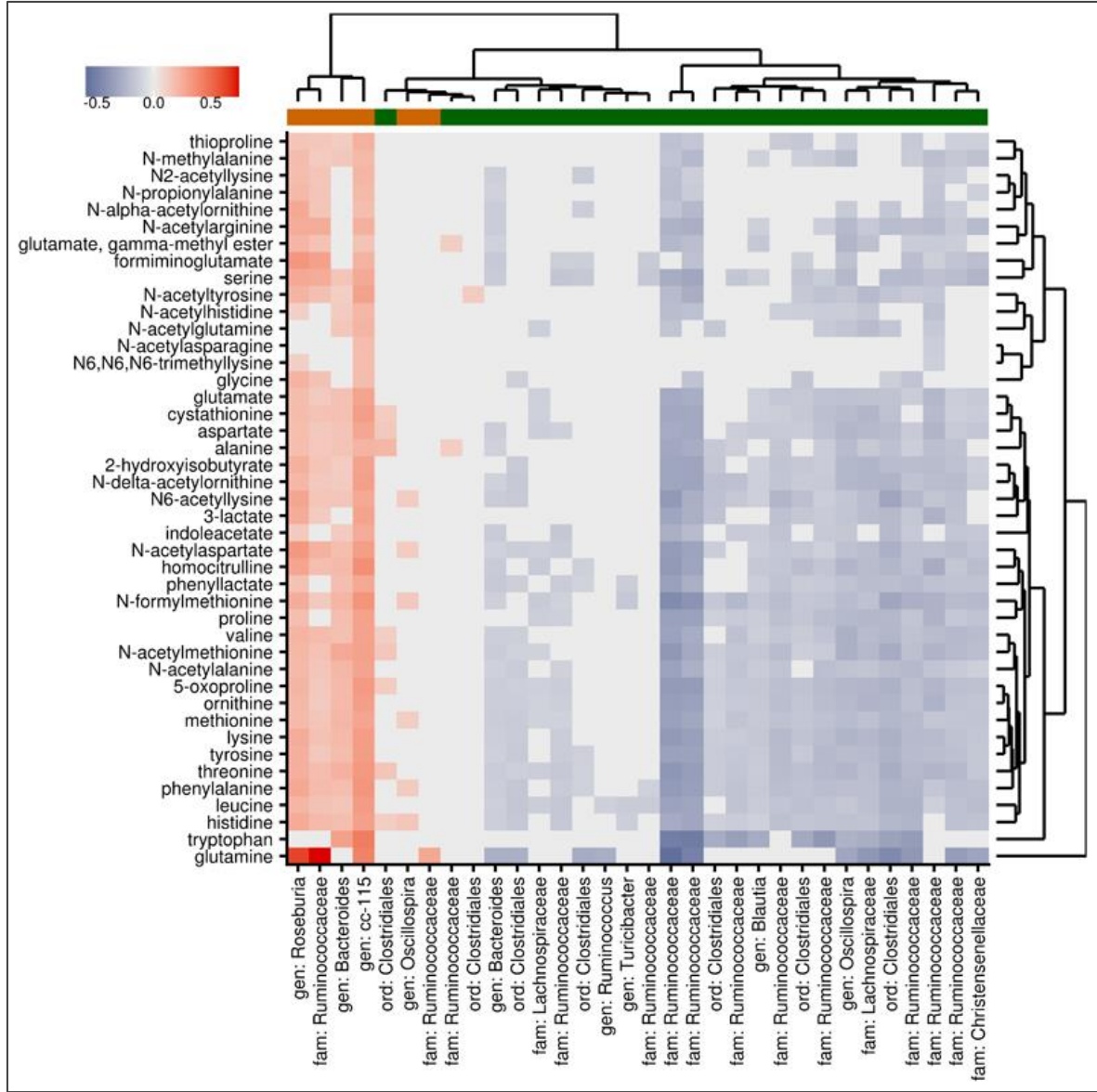
Bağırsaktaki bakterilerin diyet bileşenlerini kullanarak enerji ve metabolitler ürettiği ve böylece konak metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir (Pedersen ve diğerleri, 2016). Bakteri kaynaklı metabolitlerin konak metabolizması üzerinde faydalı veya zararlı etkileri olabilmektedir. Sindirilemeyen liflerden üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin (Short Chain Fatty Acids, SCFA) obezite ve diyabet önleyici faydalı etkileri bulunmuştur (Chang ve diğerleri, 2014; Kimura ve diğerleri, 2013; Tolhurst ve diğerleri, 2012). Ayrıca, diyet proteinlerinden bakteriler tarafından üretilen N-nitrozo bileşikler, amonyak ve hidrojen sülfür gibi metabolitler reaktif oksijen türlerini ve DNA hasarını indükleyebilir ve böylece inflamatuvar yolları aktive edebilir (Kim ve diğerleri, 2013). İlgili çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotası bakterileri, ürettikleri metabolitler ve konakçı reseptörleri ve fenotipik

cevapları arasında mekanik bağlar olduğu öne sürülmektedir (Dominguez-Bello ve diğerleri, 2019).

Mikrobiyota ve metabolitler arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, aralıklı kanonik korelasyon analizi (CCA) ve ikili Spearman's sıralama korelasyonu yöntemleri kullanılmıştır. Bu analiz sonucunda mikrobiyota ve metabolit ilişkisinin zaman içinde değiştiğini, fonksiyonel redundant (genetik kodda aynı amino asitler için çoklu kodonlar bulunması) ve suş düzeyi değişkenliği gibi faktörlerin karmaşıklığı nedeniyle konakçı ve bakteri metabolizması ilişkisinde spesifik mikrobiyal etkilerin tespitinin zorluklar içerdiği anlaşılmıştır (Nguyen ve diğerleri, 2021). Morishima ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ragbi oyuncularının sulu dışkılama sıklığının artması nedeniyle bağırsak mikrobiyotasında bir disbiyoz olabileceği düşünülmüş ve feçeslerindeki mikrobiyota bileşimi ve organik asit miktarları karşılaştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, ragbi oyuncularının feçeslerindeki süksinat konsantrasyonu beş kattan daha yüksek bulunmuştur. Bu durum bağırsak inflamasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, faydalı özellikleri bilinen izobutirat ve izovalerat konsantrasyonları da önemli ölçüde düşük bulunmuştur (Morishima ve diğerleri, 2021). Farklı dozlarda radyasyona maruz bırakılan farelerde feçes metabolomu ve metagenomik değişikliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada (Goudarzi ve diğerleri, 2016), feçeste radyasyon dozunun artışıyla düzeyi azalan metabolitler gliserik asit, homogentisik asit, glutakonik asit ve pipokolik asit olarak gösterilmiştir. Hippurik asit, taurin ve ürobilinojen düzeylerinin ise radyasyon dozunun artışı ile arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada farklı zaman noktalarında feçes örnekleri toplanmış ve yapılan analizde metabolitlerin miktarının farklı zaman noktalarında değiştiği gözlenmiştir. Fekal bakteri çeşitliliği ve karşılaştırmalı topluluk yapısının tespiti için, 16S rRNA sekanslama testi ve ardından Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) ve Phyloseq paketleri kullanılarak biyoinformatik analiz yapılmıştır. İstatiksel olarak anlamlı ilişkiye sahip 20 adet metabolit ve mikrobiyotadaki bakteri toplulukları arasında interomik bağlantı kurulmuştur.

Zierer ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, feçes metabolomunun yaş, cinsiyet, obezite, genetik etkiler ve bağırsak mikrobiyomundaki tek ve çok değişkenli bağılıklar ile ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmada ölçülen 1.116 adet feçes metabolitinin 647 tanesi aynı platformda profilendirilen aynı bireylerin kan örneklerinde tespit edilmemiştir. Bu durum, feçes metabolomunun kan metabolomiklerine tamamlayıcı bilgi sağladığını düşündürmüştür. Ayrıca, bu çalışmada feçes metabolomunun bağırsak mikrobiyotasıyla

ilişkilerini değerlendirmek için hem fekal metabolomik hem de 16S rRNA sekanslama verileri olan denekleri kullanarak yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, örnek saklama süresi ve ailesel yapı gibi değişkenler ayarlanmıştır. Shannon alfa çeşitliliğine karşı metabolit konsantrasyonları regresyonu yapılmıştır. Feçes metabolit konsantrasyonunu mikrobiyal betaçeşitliliğe karşı regrese ederek mikrobiyota tarafından bağımlı olan her bir metabolitin varyans oranları tahmin edilmiştir. Fekal metabolom ve mikrobiyom arasındaki çok değişkenli bağılıkları değerlendirmek için örneklerin en az %80'inde saptanan ve bilinen kimyasal kimliğe sahip 423 metaboliti; cinse tam taksonomi atanan 241 Operasyonel Taksonomik Birimler (OTU) ile birleştiren bir grafik model çıkarılmıştır. Visseral yağlanmayla ilgili bağırsak mikrobiyotası ve ilişkili metabolitler belirlenmiş ve Şekil 2.6.'daki şekilde gösterilmiştir. Feçes metabolitleriyle mikrobiyata arasındaki ilişkiler, visseral yağlanmayla ilgili ilişkilerine karşılık gelmektedir. Bu da mikrobiyal metabolik profilin, taksonomiden ziyade konak fenotipiyle daha yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Zierer ve diğerleri, 2018).



Şekil 2.6. Bağırsak mikrobiyotası ve visseral yağlanma ile ilişkili metabolitler. (Zierer ve diğerleri, 2018) (Bu çalışmada visseral yağ kütlesi 43 fekal amino asitle pozitif; 32 OTU ile pozitif veya negatif (6 tane turuncu renk pozitif, 26 tane yeşil renk negatif) ilişkilendirilmiştir. Kırmızı kareler, bu metabolitler ile OTU'lar ($\beta > 0$) arasındaki pozitif ilişkileri ve mavi kareler negatif ilişkileri ($\beta < 0$); gri karolar, anlamlı olmayan ilişkileri gösterir ($FDR > 5\%$))

2.4.5. Yüksek fruktoz diyetinin bağırsak metabolitlerine etkisi

Jang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, farelere glukoz ve fruktozu işaretli (C_{13} glukoz, C_{13} fruktoz) verilmiş olup fruktozun glukozdan daha kapsamlı metabolitlere dönüştüğü ortaya çıkarılmıştır. Oral yolla verilen işaretli fruktoz, dolaşımda glukoz olarak bulunmuş olup fruktozun glukozdan 11 kat daha fazla gliserat ürettiği tespit edilmiştir. Ayrıca fruktoz karbonlarının TCA ara ürünlerine, glutamat, glutamin ve alanin gibi

aminoasitlere ve üre döngüsü metabolitlerine (ornilin ve sitrülün) önemli ölçüde katkıda bulunduğu gösterilmiştir. İlgili çalışmada laktat, glukonat ve serinde hiçbir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, diyetle alınan fruktozun glukoz, gliserat ve çeşitli diğer organik asitlere dönüştürüldüğü göstermektedir (Jang ve diğerleri, 2018). Ayrıca, bu çalışmada C₁₃ fruktozun farelerde intravenöz sondasıyla karaciğerde küçük miktarda F-1-P ortaya çıkmasıyla birlikte ince bağırsakta yoğun bir şekilde F-1-P birikimiyle sonuçlanmıştır. Aynı şekilde fruktoza özgü metabolit olan etiketli gliserat da ince bağırsakta diğer organlardan daha yüksek oranlarda tespit edilmiştir. İnce bağırsakta bununla birlikte fruktoz metabolitleri arasından gliserol-3-fosfat ve birkaç organik asit de bulunmuştur. C₁₃ glukozdan oluşan G-6-P yoğunluğu ince bağırsakta minimum düzeyde saptanmıştır. Bu kapsamda, ince bağırsağın glukozu pasif olarak ilettiği, fruktozu ise aktif olarak metabolize ettiği anlaşılmaktadır. Aynı çalışmada feçeste yapılan analizde yüksek fruktoz diyetinin feçesteki yüksek miktarda sindirilmemiş fruktoz tespitine yol açtığı görülmüştür. Ayrıca TCA ara ürünleri, esansiyel amino asitler ve kısa zincirli yağ asitlerinin miktarındaki değişim, bağırsak mikrobiyotasındaki bakterilerin fruktoz karbonlarını kullanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Antibiyotik verilen farelerde mikrobiyotadaki bakteri yoğunluğu azalmış ve bu metabolitlerin miktarında değişim gözlemlenmemiştir. Bu durum, ilgili değişimlerin bakteri yoğunluğu ve aktivitesiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, bağırsağın metabolizma kapasitesini aşan yüksek miktarda fruktozun karaciğere ve bağırsak mikrobiyotasına yayıldığı ve buralarda fonksiyon ve bileşimi etkileyerek hastalıkların gelişimine neden olabileceği öne sürülmektedir (Jang ve diğerleri, 2018).

Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçeslerinde kısa zincirli yağ asitleri, gliseraldehit, gliserol, D-piroglutamik asit, L-piroglutamik asit, 5-aminovalerik asit gibi metabolitlerin miktarlarında önemli derecede değişiklik olduğu bir çalışmada gösterilmiştir. Fruktoz diyeti sonucu fekal mikrobiyotanın değişimiyle metabolitlerdeki değişimler ilişkilendirilmiştir. Çalışma grupları arasında önemli değişiklikler gözlemlenen metabolitler arasındaki ilişkiyi anlamak için 38 metabolit, Ingenuity Pathway Analysis (IPA) sistemine gönderilmiştir. 38 metabolitten 31'i IPA veri tabanında eşleştirilmiştir. Sükkinik asit, laktik asit, malik asit gibi eşleşen metabolitlerin çoğunluğu inflamatuvar hastalıklar ve tepkilerle ilgili bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanlarda fruktoz tüketiminin artışıyla karbonhidrat substratının artması ve buna bağlı olarak feçeste kısa zincirli yağ asitlerinin artması beklense de bu yağ asitlerinin miktarında düşüş gözlemlenmiştir. Bu duruma, yüksek fruktoz diyeti sonucu bütirat üreten bakterilerinin

azalmasının neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, uzun zincirli yağ asidi olan margarik asit miktarının fruktoz diyeti uygulanan hayvanların feçeslerinde arttığı gözlenmiştir. Margarik asidin yalnızca bakteriler tarafından üretildiği bilinmektedir. Bu nedenle, uygulanan diyetle bağırsak mikrobiyota bileşiminin değiştiği ve bunun da margarik asit üreten bakterilerin artışına neden olduğu öne sürülmüştür. Bununla birlikte, feçesteki analizde artan ve azalan amino asitler tespit edilmiş olup bu amino asitlerin mikrobiyotadaki bakterilerin substratı olabileceği düşünülmüştür. Feçeste gözlemlenen üre miktarındaki artış ise bağırsaktaki bakterilerin metabolizmasının bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir. Malik asit, TCA döngüsünün bir ara ürünüdür ve bahsedilen çalışmada feçeste yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanlarda düzeyi önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca anaerobik bakteriler tarafından üretildiği bilinen 5-aminovalerik asit düzeyinde gözlemlenen artma, bu bileşiği üreten bakterilerin yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanlarda sayısının arttığını düşündürmüştür. Yapılan bu çalışma, feçesteki metabolitlerin anlamlı değiştiği durumlarla glikoliz ara ürünü olan gliseraldehit ve DNL ile ilişkisini bildirmiştir. Ayrıca, feçesteki piroglutamik asit miktarında gözlemlenen anlamlı artış, bağırsak mikrobiyotasının değişmesi sonucu glutatyon metabolizmasının bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bütüncül değerlendirildiğinde bu çalışma, diyetle ilişkili fekal metabolik profilini ortaya çıkarmış olup potansiyel biyobelirteçlerin belirlenmesi için yol göstermektedir (Wei ve diğerleri, 2015).

Silva ve arkadaşları tarafından bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerde 2 haftaya bir feçes örneği toplanarak H^1 -NMR spektrometresi ile analiz yapılmış olup fekal organik asitler ve amino asitlerde bazı değişiklikler görülmüştür. Bu çalışmada, Principal Component Analysis (PCA) ve Partial Least-Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) yöntemleri birim varyans ölçeklendirilmesinden sonra gerçekleştirilmiştir. PCA skorlamasıyla yüksek fruktoz diyeti grubunda kontrol grubu ve diğer çalışma grubuna (yüksek glukoz diyeti) göre iki farklı yöne eğilim gözlenmiştir. Fruktoz, süksinat, fenilalanin, tirozin ve ksiloz, diğer diyetlerle beslenen farelere göre fruktozla beslenen farelerde daha yüksek düzeyler sergilediği görülmüştür. PLS-DA skorlamasında, fruktoz diyetiyle beslenen hayvanların verilerindeki sapmanın, feçesteki absorpsiyonu tamamlanmayan früktozdan kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ayrıca, fruktoz diyetiyle beslenen farelerin feçeslerinde *Lactobacillus* yoğunluğunun artması, bu türün fruktofilik (fruktozu fermente edebilen) bakteri olmasıyla bağdaştırılmıştır (Silva ve diğerleri, 2018).

2.5. Fermente Gıdalar, İçerikleri ve Sağlık Etkileri

Fermente gıdalarda meydana gelen faydalı mikroorganizmalar, bağırsakta da canlılığını sürdürebilmektedir. Ülkemizde peynir, kıymız, kefir, yoğurt gibi fermente süt ürünleriyle birlikte turşu, şalgam gibi bitkisel kaynaklı fermente ürünler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda fermente gıda ve içeceklerin, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini değiştirebileceği, bağırsak geçirgenliğinin kontrolünü iyileştirebileceği, intestinal bariyer işlevini artırabileceği, sindirim enzimlerini aktive edebileceği ve kısa zincirli yağ asitleri ve vitaminlerin üretimine yardımcı olabileceği gösterilmiştir (Bell ve diğerleri, 2018; Kok & Hutkins, 2018; Şanlıer ve diğerleri, 2019). Ek olarak bu çalışmalarda, fermente gıdaların prebiyotik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteleri olan biyoaktif bileşiklere ve peptitlere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, fermente gıdaların tüketiminin metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi belirli hastalıkların görülme riskini azalttığı; laktoz intoleransı semptomlarını hafiflettiği; ve genel olarak bağışıklığı güçlendirdiği belirtilmektedir.

Günümüzde fermente gıdalar arasında probiyotikler öne çıkmaktadır. Probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. Probiyotikler, konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı olmayan bir gıda bileşeni olarak tanımlanmaktadır (Hill ve diğerleri, 2014). Laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* türleri insan sağlığına katkıları önemli olan probiyotikler olarak kanıtlanmıştır (Kok & Hutkins, 2018). Günlük diyetin prebiyotik ve probiyotikler kullanılarak zenginleştirilmesi, bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu yoluyla metabolik sağlığı iyileştirmek için yararlı bir strateji olarak önerilmiştir. Bu bağlamda, probiyotik suşun içeriği, formülasyonu, hedeflenen sonuç, uygulama süresi, konakçı metagenomu gibi değişkenler nedeniyle elde edilen sonuçlar tutarsız olarak bulunmuştur (Cani & Van Hul, 2015; Le Barz ve diğerleri, 2015). Dolayısıyla çeşitli bakteri suşlarıyla konakçı arasındaki mekanizma karmaşık olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, farklı bakteri suşlarının bağırsağın farklı kısımlarını hedef alması ortaya çıkan etkinin de farklı olmasını sağlayacaktır (Cani & Van Hul, 2015).

Sinbiyotik terimi, probiyotikleri ve prebiyotikleri bir sinerjik bir etkiyle birleştiren gıda takviyelerini ifade etmektedir. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda *Lactobacillus fermentum* CECT5716 ve fruktooligosakkaritlerden oluşan sinbiyotik kombinasyonunun

etkisi araştırılmıştır. Sinbiyotik takviyesinin, sıçanlarda fruktozun neden olduğu düşünülen disbiyozis, hepatik steatozis, endotoksemi, insülin direnci, bağırsak bariyer fonksiyonunda hasar gibi patolojik etkileri önlediği tespit edilmiştir (Rivero-Gutiérrez ve diğerleri, 2017). Yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus helveticus* türlerini içeren takviyenin, testis dokusunda bazı protein düzeylerinin ekspresyonunda değişmeye yol açtığı görülmüştür. Bu durum, ilgili bakteri türleriyle probiyotik takviyenin, fruktozla indüklenen apoptozu azaltabileceğini göstermektedir (Yildirim ve diğerleri, 2020). Başka bir çalışmada, yüksek düzeyde fermente edilebilir diyet lifi içeren bir diyetle beslenen sıçanların, diyetle bağlı obeziteye ve ilgili metabolik hastalıklara karşı korunduğu görülmüştür (Cani ve diğerleri, 2005). Bu çalışmada, 35 gün boyunca bir diyet lifi olan oligofruktoz ile ön işleme tabi tutulan sıçanlar, yüksek yağlı diyet yapıldığında hiperfaji, kilo artışı veya serum trigliseritlerinde artış sergilememiştir. Böylece liflerin mikrobiyal fermentasyonu ile üretilen metabolitlerin, endojen peptitler olan glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) ve GLP-2'nin üretimini uyardığı öne sürülmüştür.

2.6. Kefir

Kefir; laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri, laktozu fermente eden maya ve fermente olmayan mayadan oluşan tek bir kültürün oluşturduğu fermente bir süt ürünüdür (Bengoa ve diğerleri, 2019; Rosa ve diğerleri, 2017). Kefir, içeriğindeki ekzopolisakkaridazlar, biyoaktif peptitler ve konjuge yağ asitleri ve birçok bakteriyosinle fonksiyonel potansiyele sahip, düşük maliyetli ve kolay ulaşılabilir bir gıda ürünüdür. Ayrıca kefirin mikrobiyal içeriği; kefir tanelerinin cinsine, sütün cinsine ve bileşimine, kültür ortamına, fermentasyon süresi ve sıcaklığına, saklama koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Rosa ve diğerleri, 2017).

2.6.1. Kefirin sağlık üzerine etkileri ve deneysel çalışmalar

Son araştırmalar kefir takviyesinin sağlık durumu üzerine faydalı etkilerini göstermektedir. Kefiran matriksinin, antitümör, immünomodülatör, antifungal, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antioksidan etkinlik taşıdığı da gösterilmiştir. Yüksek yağ ve yüksek fruktoz içerikli diyetle obezite, tip 2 diyabet ve hiperlipidemi tablosu oluşturulmuş sıçanlarda, 90 gün boyunca 10 mL/kg (vücut ağırlığı) kefir uygulamasının histolojik toksisite göstergesi değişimleri tersine çevirdiği ve pankreatik lipaz ve alfa amilaz düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Tiss ve diğerleri, 2020). Metabolik sendrom oluşturulmuş

sıçanlarda yapılan bir çalışmada, günlük 1 ml kefir verilen grupta 10 haftalık bir uygulama sonucunda plazma ve karaciğer trigliseritleri, insülin direnci, açlık glukoz ve açlık insülin değerleri, pro-inflamatuvar sitokin ekspresyonunda azalma ve anti-inflamatuvar sitokin ekspresyonunun artma gözlenmiştir. Böylece, kefir uygulamasının metabolik sendrom tablosunu iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Rosa ve diğerleri, 2016). Bir başka çalışmada, sağlıklı farelere *Lactobacillus kefir* oral gavaj yoluyla 21 gün boyunca uygulanmış olup anti-inflamatuvar etki çeşitli parametrelerle gösterilmiştir (Carasi ve diğerleri, 2015). Altı hafta boyunca içme sularına %20 a/h fruktoz eklenerek metabolik sendrom tablosu oluşturulan farelerde yapılan bir diğer çalışmada, 6 haftalık süreçte iki güne bir süt içerisinde *Lactobacillus kefir* uygulanmıştır. Feçesteki mikrobiyota bileşimine bakıldığında yüksek fruktoz diyeti sonucu *Lactobacillus* türlerinin miktarının azaldığı ve *Bacteroidetes fragilis* miktarının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, *L. kefir* uygulaması sonucu yüksek fruktoz diyetiyle beslenen ve beslenmeyen farelerde *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumlarında ve *Lactobacillus murinus* ve *Bacteroides fragilis* türlerinin yoğunluğunun arttığı görülmüştür (Zubiría ve diğerleri, 2017).

2.6.2. Kefirle ilgili klinik çalışmalar

Metabolik sendrom, tip 2 diyabet, obezite, hiperkolesterolemi hastalığına sahip insanlarda kefir takviyesi ile çalışmalar yapılmış olup birtakım ölçütler değerlendirilmiştir (Bellikci-Koyu ve diğerleri, 2019; Fathi ve diğerleri, 2016; Ostadrahimi ve diğerleri, 2015; Pražnikar ve diğerleri, 2020; St-Onge ve diğerleri, 2002). Ostadrahimi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacteria* türlerini içeren 600 ml/gün kefir tüketiminin, tip 2 diyabetli hastalarda açlık kan glukoz değeri ve glukozile hemoglobin üzerinde faydalı etkileri olduğunu bildirmişlerdir (Ostadrahimi ve diğerleri, 2015). Hiperkolesterolemi tanılı insanlarda yapılan bir çalışmada, dört hafta boyunca 500 ml/gün kefir tüketiminin kandaki lipit profili üzerinde hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir (St-Onge ve diğerleri, 2002). Ancak, aynı tüketimin feçesteki toplam bakteri içeriğini ve kısa zincirli yağ asitlerinin miktarını arttırdığı bulunmuştur. Obez ve fazla kilolu premenopozal kadınlarda yapılan çalışmada, sekiz hafta boyunca günde iki porsiyon kefirin hem lipit profilinde hem de kilo yönetiminde süte benzer bir iyileşmeye yol açtığını göstermiştir (Fathi ve diğerleri, 2016). Metabolik sendromlu hastalarda yapılan çalışmada, 12 hafta boyunca, 180 ml/gün *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp.*

cremoris, *Lactobacillus kefir*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces unisporus* türlerini içeren kefir tüketimi feçesteki *Actinobacteria* miktarında artışa yol açmıştır (Bellikci-Koyu ve diğerleri, 2019). Aynı çalışmada açlık insülin değeri ve HOMA-IR (İnsülin Direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirmesi) değerlerinde artış görülürken, TNF- α ve IFN- γ gibi proinflatuvar sitokinlerin değerinde azalma tespit edilmiştir. İlgili çalışma, bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle biyokimyasal durum ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Ayrıca, vücut yağ kütlesiyle *Bacteroidetes* miktarı arasında negatif bir korelasyon, *Firmicutes* ve *Actinobacteria* miktarıyla da pozitif bir korelasyon gözlemlenmiştir. İnsanlarda kefir tüketimiyle saptanan tepkilerdeki değişiklik, kefir bileşimindeki değişikliklerden, farklı çalışma düzenleri, katılımcıların çalışma başlangıcındaki metabolik profilindeki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Bir çalışmada, probiyotiklerin, başlangıç toplam kolesterol düzeyleri yüksek (251-300 mg/dL) hastalarda, başlangıç toplam kolesterol düzeyleri düşük (200-250 mg/dL) olan hastalara göre daha etkili olduğunu göstermiştir (Fuentes ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde başka bir çalışmada, probiyotik takviyesinin yalnızca başlangıçtaki açlık kan şekeri düzeyi 7 mmol/L ve üzerinde olan hastalarda etkili olduğunu göstermiştir (Nikbakht ve diğerleri, 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Diyet

Bu tez çalışmasının protokolü Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü.ET-22.028 kodu ile onaylanmıştır. Sıçanlarda metabolik sendrom modeli oluşturulmasıyla ilgili uygulanan aşamalar ve feçesteki organik asit tayini için yöntem aşağıda yer almaktadır.

Yüksek fruktoz diyetiyle metabolik sendrom modeli oluşturulması:

4 haftalık erkek Wistar sıçanlar Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Hayvanlar, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (22°C) ve nem kontrollü odalarda standart yem ve suya serbestçe ulaşabilecek şekilde yerleştirilmiştir. Bir haftalık akomodasyon periyodunun ardından farklı gruplara ayrılmıştır. İçme suyu içinde sıçanlara fruktoz verilerek metabolik sendrom tablosu oluşturulmuştur. Fruktoz ve kefirin dozu ve süresi ön deneylerle tespit edilmiştir. Hayvanların başlangıç ve süreç içindeki vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ile içtikleri sıvı miktarları haftalık ölçümlerle kaydedilmiştir. Deney hayvanları, standart sıçan yemi (%62 nişasta, %4 yağ, %23 protein, %7 selüloz ile vitamin ve mineral karışımı) ile beslenmiştir. Deney süresi sonunda hayvanlar ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) ile ötenazi edilmiştir.

Gruplar

1. Kontrol: Hayvanlar, 15 hafta boyunca içme suyu almaya devam etmiştir. 10. haftadan başlayarak gavaj ile placebo (içme suyu (1 ml/100 g); 6 hafta) verilmiştir (n=6).
2. Fruktoz: Hayvanlara 1. haftadan itibaren 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir. 10. haftadan başlayarak gavaj ile placebo (içme suyu (1 ml/100 g); 6 hafta) verilmiştir (n=6).
3. Fruktoz+Kefir: Hayvanlara 1. haftadan itibaren 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir. 10. haftadan itibaren gavaj ile kefir (1 ml/100g; 6 hafta) olarak verilmiştir (n=6).

Fruktoz içerikli solüsyon hazırlanması

Sıçanlarda metabolik sendrom tablosu oluşabilmesi için, içme suyu içerisinde %20 fruktoz, 15 hafta boyunca verilmiştir. İçme suyu içerisinde %20 a/h fruktoz içeren solüsyon haftada iki kez hazırlanmıştır. Solüsyon +4°C de saklanmıştır. Bu solüsyon, hayvanlara verilmeden önce çalkalanıp su kaplarına eklenmiştir.

Kefirin mayalanma süreci ve hazırlanması

Hayvanlara uygulanan kefir, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen tam yağlı günlük sütün %5 kefir daneleri ile 22°C'de, 24 saat süre boyunca mayalanması ile elde edilmiştir. Her iki günde bir yeni kefir üretimi yapılmıştır. Hayvanlara kefir intragastrik sondayla 1 ml/100 g olarak uygulanmıştır.

Sıçanlardan feçes örneklerinin alınması

Deney süresi sonunda hayvanlar ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) ile ötenazi edilmiştir. Rektal feçes örnekleri steril tüplere alınmıştır. Sıvı nitrojen içinde dondurulmuştur ve analize kadar -85°C'de saklanmıştır.

3.2. Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan fruktoz, Danisco Sweeteners OY (Finlandiya)'dan sağlanmıştır. Organik asit analizi deneylerinde Jasem Kantitatif Organik Asit LC-MS/MS analiz kiti kullanılmıştır.

3.2.1. Kullanılan çözeltiler

Feçes örneklerinin hazırlanmasında kullanılan çözeltiler

- 500 µl ekstraksiyon reaktifi: Distile su:asetonitril, 50:50
- Kararlı izotop etiketli internal standart karışımı
- Organik asit reaktif-1

3.3. Araç ve Gereçler

Jasem Kantitatif Organik Asit LC-MS/MS analiz kiti (Sem Laboratuvar Cihazları Pazarlama San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kantitatif tayinler için kullanılmıştır. Kit içeriğinde analitik kolon, kalibrantlar, kararlı izotop etiketli internal standart karışımı ve örnek hazırlık reaktifi bulunmaktadır. Ayrıca hassas terazi, -85°C derin dondurucu, vorteks, LC-MS/MS cihazı (Agilent HPLC sistemine bağlı Ultivo tandem kütle spektrometresi; 6465B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) kullanılmıştır.

3.4. Yöntemler

Fekal matriksin heterojen ve karmaşık yapısı nedeniyle feçes örneği hazırlamak için farklı yöntemler bulunmaktadır. Ölçümü yapılmak istenen metabolite göre seçilen yöntemle analiz yapılabilmektedir. Feçes örneklerinde metabolomik analiz çalışması için, örnekteki metabolitleri ekstrakte etmek ve LC-MS/MS veya NMR gibi analitik platformlarda erişilir hale getirmek gerekmektedir (Moosmang ve diğerleri, 2019; Xu ve diğerleri, 2015). Metabolomik çalışmalarda tercih edilen spektroskopik teknikler, NMR spektroskopisi ve GC veya LC ile birleştirilmiş kütle spektroskopisi yöntemleridir. GC-MS yöntemiyle yapılan çalışmalarda 100 civarında metabolit tanımlanabilirken, LC-MS yöntemiyle yapılan çalışmalarda 500'e yakın tanımlı metabolit ölçülebilmektedir (Zeki ve diğerleri, 2020).

Bu tez çalışması için, daha önce feçeste yapılan metabolomik analiz çalışmalar (Liao ve diğerleri, 2019) dikkate alınarak LC-MS/MS yöntemi seçilmiştir. Bu çalışmada tercih edilen su ve asetonitril karışımı, fekal metabolomun LC-MS yöntemiyle analiz yöntemlerinin araştırıldığı bir çalışmada optimal ekstraksiyon ve pik düzeyi sağlayan çözücü karışımı olduğu saptanmıştır (Xu ve diğerleri, 2015). Kullandığımız yöntemde, feçes matriksindeki kompleks yapıdan kaynaklı interferansı engellemek için ise izotop etiketli internal standart kullanılmıştır.

3.4.1. Feçeste organik asit analiz yöntemi

Örnek analizleri, Agilent HPLC sistemine bağlı Ultivo tandem kütle spektrometresinde (6465B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) gerçekleştirilmiştir. Organik asit tayini, Conformity European In Vitro Diagnostic (CE-IVD) sertifikalı valide edilmiş Jasem

Kantitatif Organik Asit LC-MS/MS analiz kiti (Sem Laboratuar Cihazları Pazarlama San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılarak yapılmıştır. İlgili analiz kitinin T.C. Sağlık Bakanlığı Ürün Takip Sistemi (ÜTS) kaydı bulunmaktadır. Kullanılan yöntemle ilgili validasyon parametreleri Ek-2’de verilmiştir.

Analitik çalışma süreci, ilgili ticari ürüne ait mobil fazlar (mobil faz A ve B), analitik kolon, kalibrantlar, kararlı izotop etiketli internal standart karışımı ve örnek hazırlık reaktifi kullanılarak tamamlanmıştır. Her bir organik asit için farklı konsantrasyon değerlerinde (Level 1-6) hazırlanmış kalibrantlar analizlenerek organik asitler için kalibrasyon eğrileri oluşturulmaktadır. Bu kalibrasyon eğrisinin x eksenini konsantrasyon (ppm biriminde), y eksenini ise kütle dedektöründen alınan sinyal cevabını göstermektedir. Bu konsantrasyon değerleri ve bazı organik asitlerin altı noktalı kalibrasyon eğrileri Ek-3’te verilmiştir. Kantitatif tayin için bu değerler kullanılmakta olup, matris etkisini kompanse etmek adına kararlı izotop etiketli internal standart karışımından yararlanılmıştır. Tayini yapılmak istenen analitler (organik asitler) için LC-MS/MS yönteminin parametrelerinin detayları aşağıda verilmiştir.

Feçes örneklerinin hazırlanması

Feçes örneğinden 20 mg alınarak 500 µl ekstraksiyon reaktifi (distile su:asetonitril, 50:50) eklenmiştir ve 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Santrifüj işleminin ardından elde edilen ekstrakt, kit protokolleri takip edilerek ilgili kit bileşenlerinin uygulanmasıyla LC-MS/MS analizlerine hazır hale getirilmiştir.

Organik asitlerin tayini için örnek hazırlığı

Ekstraktan 100 µL alınarak bir HPLC viyaline aktarılmıştır ve üzerine 25 µL organik asit internal standart karışımı eklenerek 5 saniye boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra, 275 µL Organik Asit Reaktif-1’i eklenerek 5 saniye daha vortekslenmiştir. Örnek hazırlık işlemlerini takiben, analiz kit metodlarının parametrelerine göre ayarlı LC-MS/MS sistemine enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir.

Organik asitlerin LC-MS/MS sistemi ile analizi

Kromatografik ayırma işlemi, farklı analitlerin yer aldığı iki panel şeklinde gerçekleştirilmiştir. Panel 1 için koşullar şu şekildedir; 0.4 ml/dk'lık bir akış hızında gradyan elüsyonu ile mobil faz A ve B kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 2 dakika boyunca mobil faz A %100'de sabit tutuldu, 2-5 dakika arasında mobil faz A %65'e düşürüldü, 5-8 dakika periyodunda ise mobil faz A %35'e indirildi, sonrasında mobil faz A başlangıç koşulu olan %100'e geri döndürülmüştür. Analiz süresi toplam 12 dakikadır. Analitik kolon ve otomatik numune alma cihazının sıcaklıkları sırasıyla 40°C ve 8°C'de tutulmuştur. Panel 2 için ise; 0.5 ml/dk'lık bir akış hızında gradyan elüsyonu ile mobil faz A ve B kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 3 dakika boyunca mobil faz A %98'de sabit tutuldu, 3-9 dakika arasında mobil faz A %80'e düşürüldü, sonrasında mobil faz A başlangıç koşulu olan %98'e geri döndürülmüştür. Analiz süresi toplam 12 dakikadır. Her iki panelde de pozitif ve negatif elektrosprey iyonizasyon (ESI) modu, organik asitler ve internal standardın deprotonlanmış formu ($m/z = [M-1]^-$) ve protonlanmış formu ($m/z = [M+1]^+$) şeklinde saptanması için uygulanmıştır. İyon kaynağı kurutma gazı sıcaklığı 150°C, kurutma gazı akışı 10 l/dak, nebulizatör basıncı 40 psi, kılıf gazı sıcaklığı 400°C, kılıf gazı akışı 10 l/dak ve kapiler voltaj hem pozitif hem de negatif polarite için 2500 V olarak ayarlanmıştır. MS/MS dedeksiyonu, her bir öncül iyon-ürün iyon kütle geçişi için ortak değeri temsil eden voltaj biriminde her ürün iyonu için özel bir değere sahip optimum çarpışma enerjileri ile elde edilmiştir. İlgili protokole göre yapılan analizle organik asidin hedeflenen internal standarda pik alan oranı, hedeflenen organik asit konsantrasyonunun tespitinde değerlendirilmiştir. Sistemin işletilmesi için Agilent MassHunter Data Acquisition yazılımı, kantitatif ve kalitatif işlemler için ise sırasıyla MassHunter Quantitative Analysis ve Qualitative Analysis yazılımları kullanılmıştır.

3.4.2. İstatistiksel analiz:

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizi, one-way ANOVA kullanılarak hesaplanmıştır. p değeri 0.05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler ve grafik çizimlerinde GraphPad Prism (versiyon 8.0.2) programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Feceste Organik Asitlerin LC/MS-MS ile Analizi

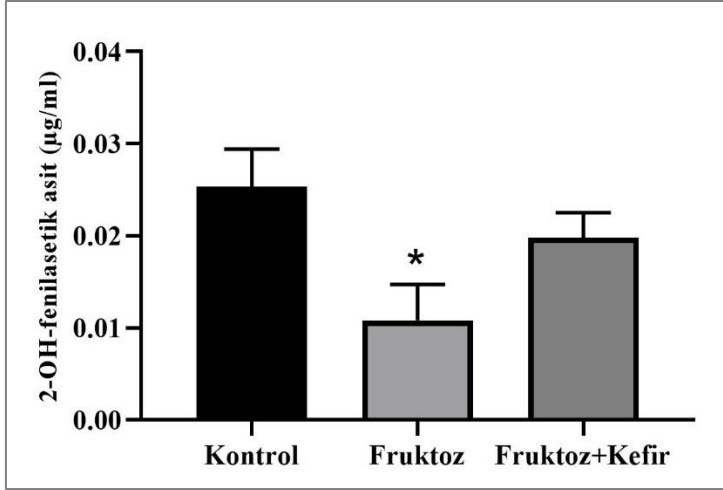
Çalışma gruplarındaki sıçanlar için feçes örneklerinde 31 adet organik asit miktarı incelenmiştir. Sıçanların feçes örnekleri için tespit edilen değerler $\mu\text{g/ml}$ cinsinden Ek-4'te verilmiştir. Fruktoz ve Fruktoz+Kefir gruplarından birer adet sıçanın feçeslerindeki organik asit miktarlarının ölçümü teknik sorunlar sebebiyle yapılamamıştır.

Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen grupta kontrol grubuna göre; 2-OH-fenilasetik asit, 3-fenillaktik asit, fumarik asit, homogentisik asit, 4-OH-fenillaktik asit, 2-OH-glutarik asit, sitrik asit ve glutakonik asit olmak üzere sekiz organik asit düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. 3-OH-2-metil bütanoik asit, 3-metil glutakonik asit, glikolik asit, N-asetiltirozin, oksoprolin, sebasik asit, 2-OH-izovalerik asit, 2-OH-3-metilpentanoik asit, 2-OH-izokaproik asit, 3-OH-izovalerik asit, 3-OH-propanoik asit, 3-OH-glutarik asit, adipik asit, etilmalonik asit, glutarik asit, metilmalonik asit, suberik asit, pirüvik asit ve süksinik asit düzeyleri ise azalma eğilimi göstermiştir. N-asetilaspartik asit ve laktik asit düzeyleri artma eğilimi göstermiştir. Malik asit ve 3-OH-pentanoik asit düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Kefir takviyesiyle beslenen grupta yüksek fruktoz grubuna göre; glutakonik asit ve etilmalonik asit düzeyleri anlamlı derecede artmıştır. 2-OH-fenilasetik asit, 3-metil glutakonik asit, fumarik asit, homogentisik asit, malik asit, N-asetiltirozin, oksoprolin, sebasik asit, suberik asit, 2-OH-glutarik asit, 3-OH-izovalerik asit, 3-OH-propanoik asit, 3-OH-glutarik asit, 3-OH-pentanoik asit, adipik asit, sitrik asit, glutarik asit ve pirüvik asit düzeyleri artma eğilimi göstermiştir. Laktik asit ve süksinik asit düzeyleri azalma eğilimi göstermiştir. 3-OH-2-metilbütanoik asit, 2-OH-3-metilpentanoik asit, 3-fenillaktik asit, glikolik asit, N-asetilaspartik asit, 4-OH-fenillaktik asit, 2-OH-izovalerik asit, 2-OH-izokaproik asit ve metilmalonik asit düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir.

4.1.1. Feçeste 2-OH-fenilasetik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 2-OH-fenilasetik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 2-OH-fenilasetik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

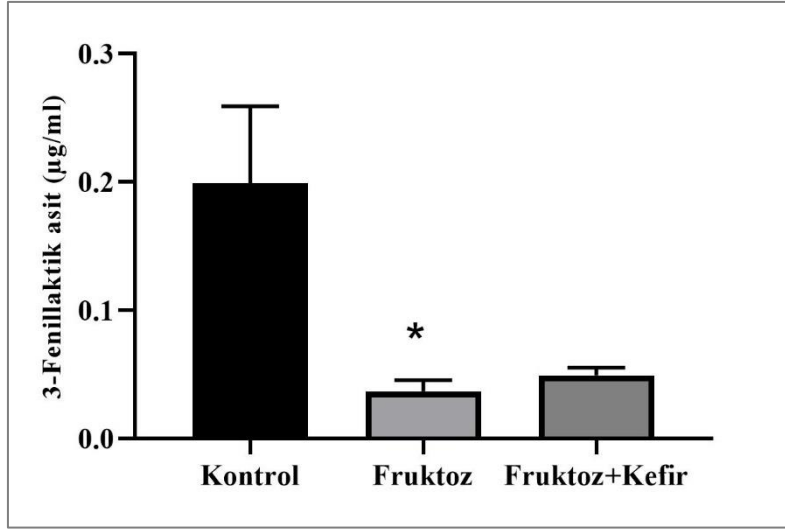


Şekil 4.1. Sıçanların feçes 2-OH-fenilasetik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.2. Feçeste 3-fenillaktik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-fenillaktik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-fenillaktik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

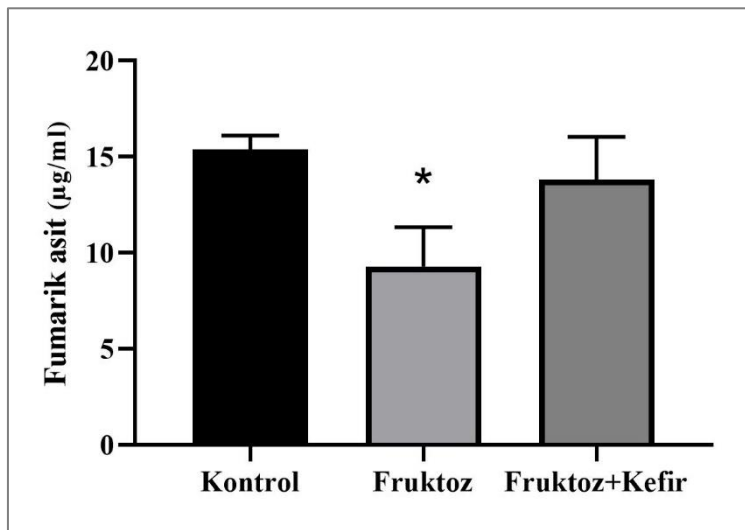


Şekil 4.2. Sıçanların feçes 3-fenillaktik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.3. Feçeste fumarik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde fumarik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde fumarik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

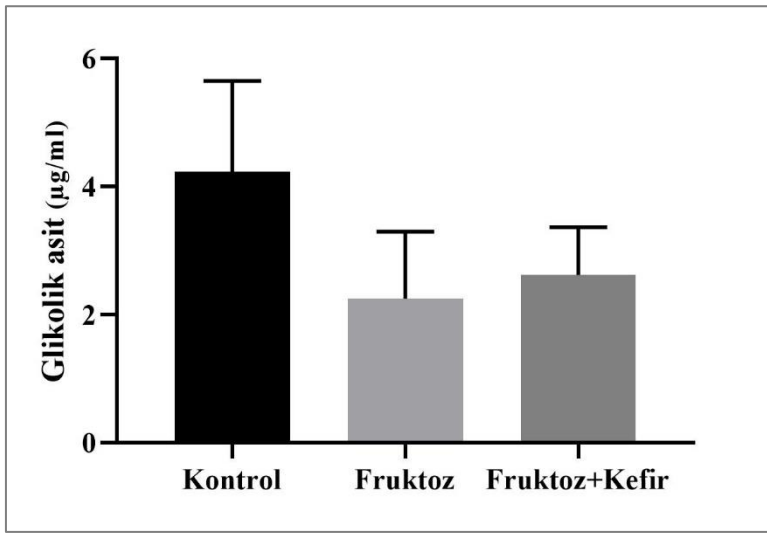


Şekil 4.3. Sıçanların feçes fumarik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.4. Feçeste glikolik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde glikolik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde glikolik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

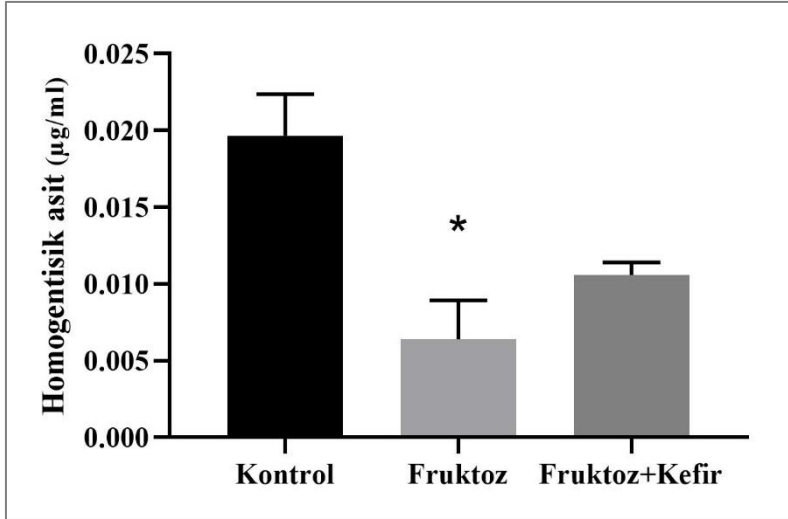


Şekil 4.4. Sıçanların feçes glikolik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$.

4.1.5. Feçeste homogentisik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde homogentisik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde homogentisik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

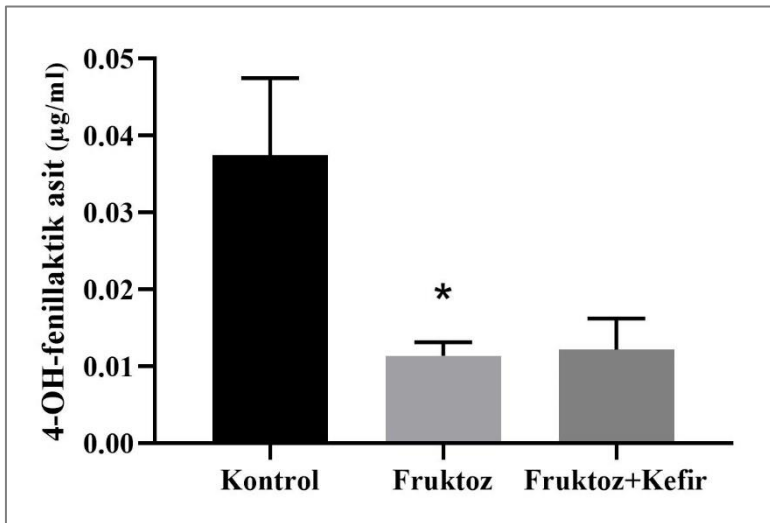


Şekil 4.5. Sıçanların feçes homogentisik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.6. Feçeste 4-OH-fenillaktik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 4-OH-fenillaktik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 4-OH-fenillaktik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

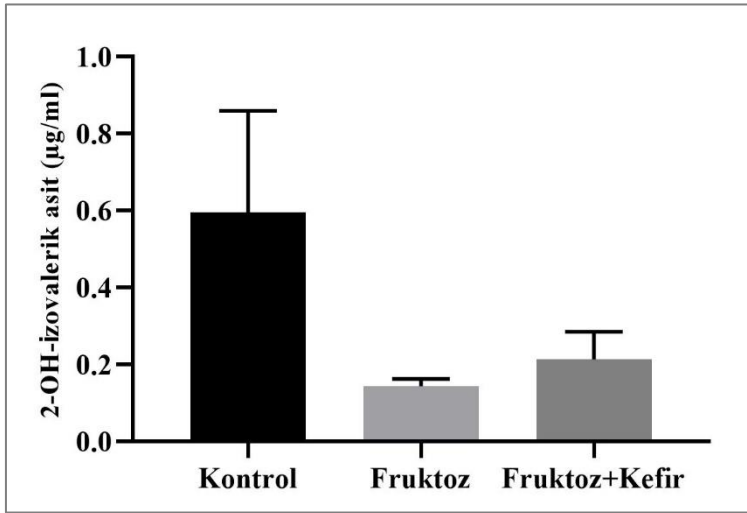


Şekil 4.6. Sıçanların feçes 4-OH-fenillaktik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.7. Feçeste 2-OH-izovalerik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 2-OH-izovalerik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 2-OH-izovalerik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

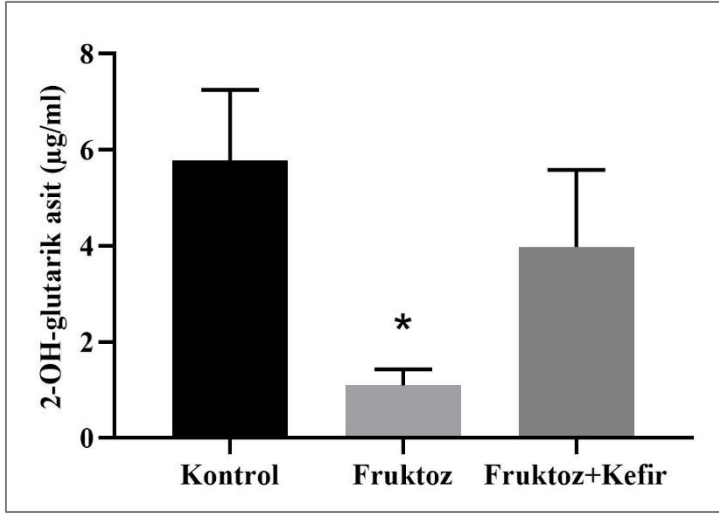


Şekil 4.7. Sıçanların feçes 2-OH-izovalerik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$.

4.1.8. Feçeste 2-OH-glutarik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 2-OH-glutarik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 2-OH-glutarik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

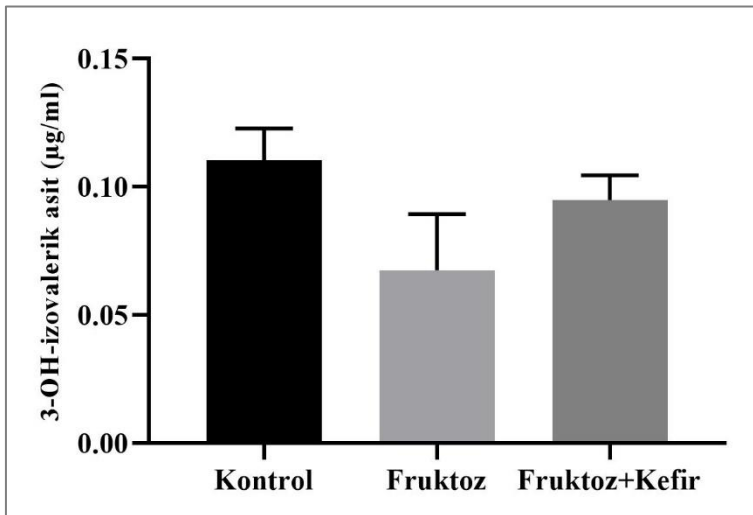


Şekil 4.8. Sıçanların feçes 2-OH-glutarik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.9. Feçeste 3-OH-izovalerik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-OH-izovalerik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-OH-izovalerik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

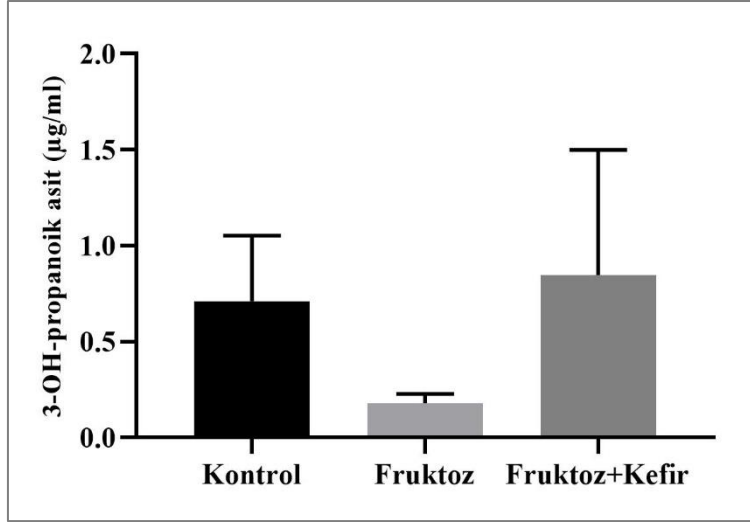


Şekil 4.9. Sıçanların feçes 3-OH-izovalerik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$.

4.1.10. Feçeste 3-OH-propanoik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-OH-propanoik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-OH-propanoik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

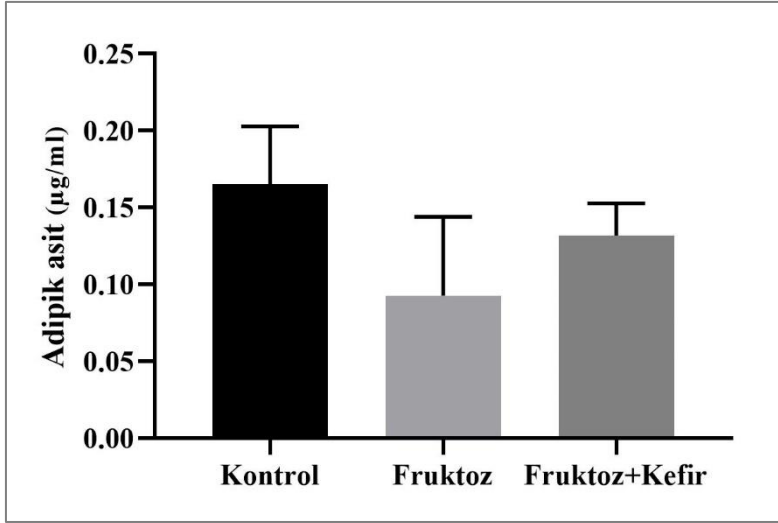


Şekil 4.10. Sıçanların feçes 3-OH-propanoik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.11. Feçeste adipik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde adipik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde adipik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

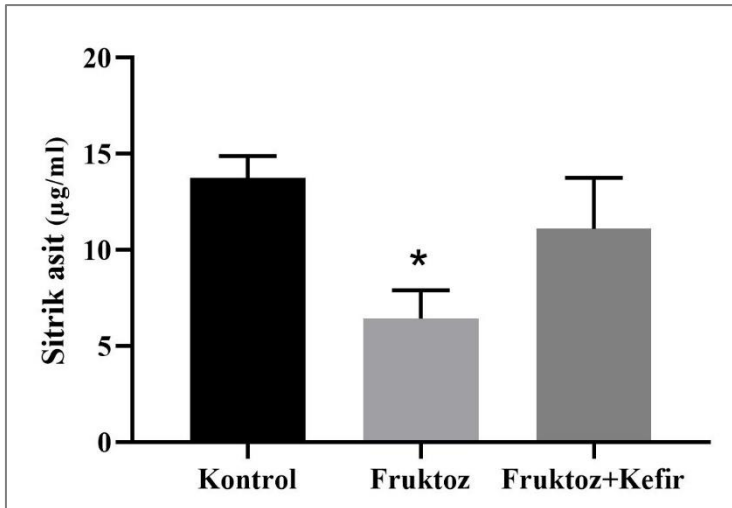


Şekil 4.11. Sıçanların feçes adipik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.12. Feçeste sitrik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde sitrik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde sitrik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

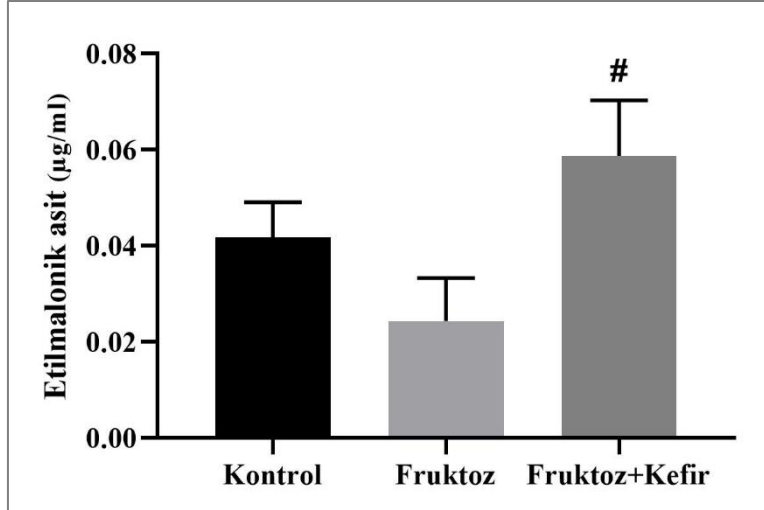


Şekil 4.12. Sıçanların feçes sitrik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6. *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.13. Feçeste etilmalonik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde etilmalonik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde etilmalonik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır.

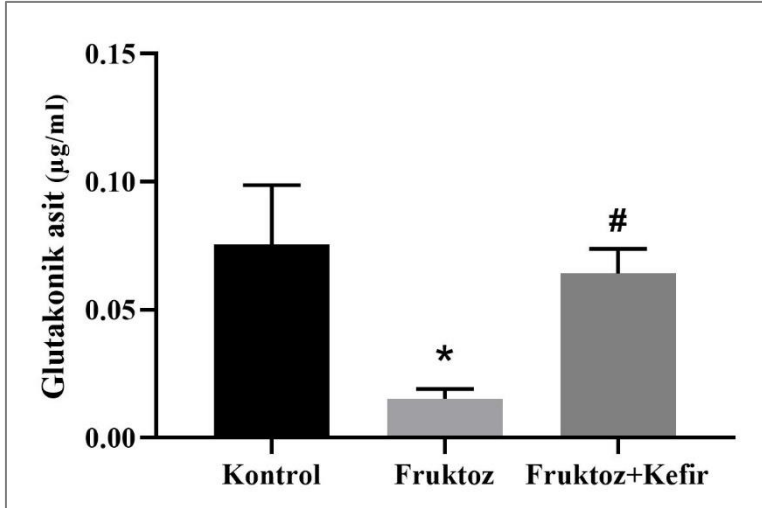


Şekil 4.13. Sıçanların feçes etilmalonik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. $\#p<0.05$ fruktoz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.14. Feçeste glutakonik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde glutakonik asit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde glutakonik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır.

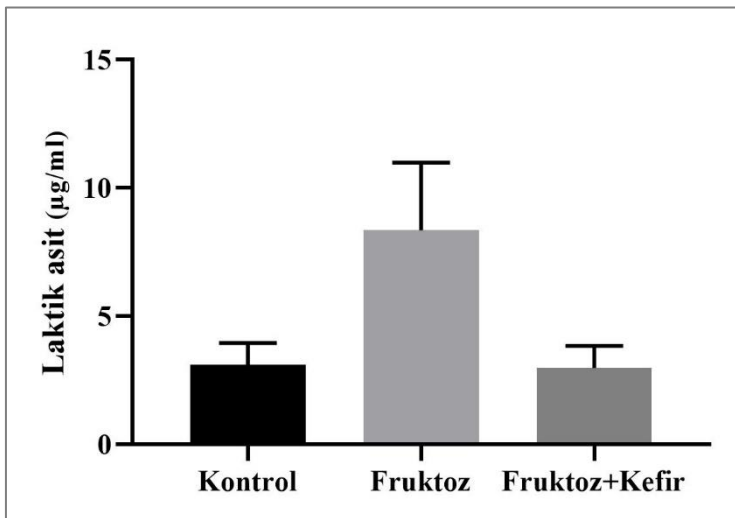


Şekil 4.14. Sıçanların feçes glutakonic asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$. * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0.05$ fruktoz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.15. Feçeste laktik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde laktik asit düzeyinin kontrol grubuna göre artış eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde laktik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre düşüş eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

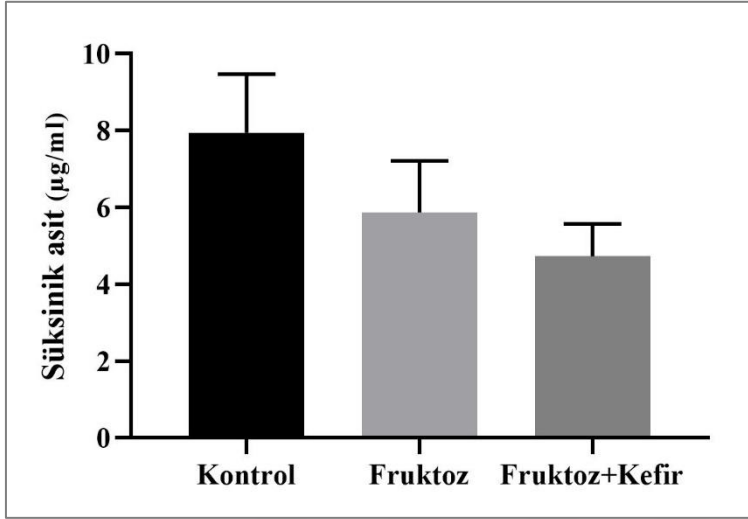


Şekil 4.15. Sıçanların feçes laktik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. $n=5-6$.

4.1.16. Feçeste süksinik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde süksinik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde süksinik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre düşüş eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

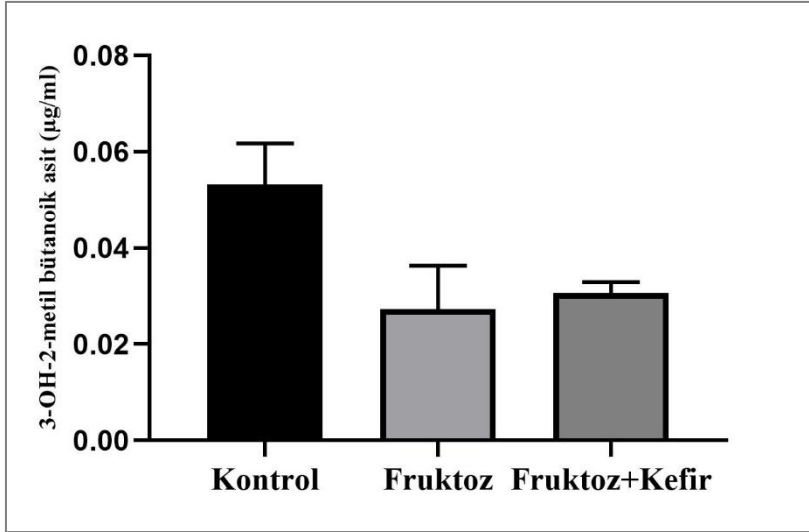


Şekil 4.16. Sıçanların feçes süksinik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.17. Feçeste 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

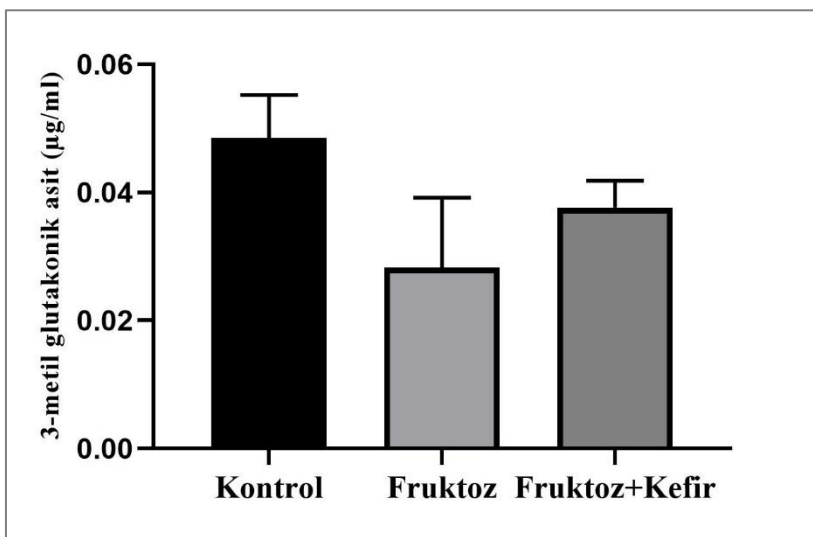


Şekil 4.17. Sıçanların feçes 3-OH-2-metilbütanoik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.18. Feçeste 3-metilglutakonik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-metilglutakonik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-metilglutakonik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

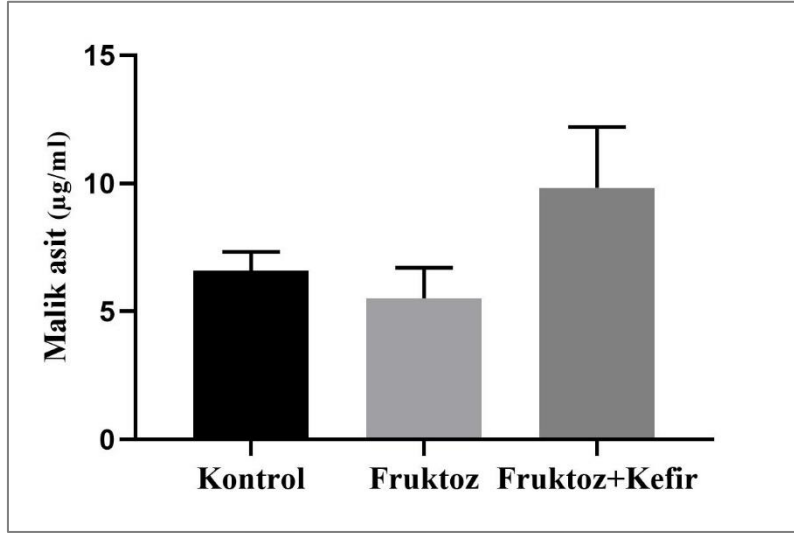


Şekil 4.18. Sıçanların feçes 3-metilglutakonik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.19. Feçeste malik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde malik asit düzeyinde kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde malik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

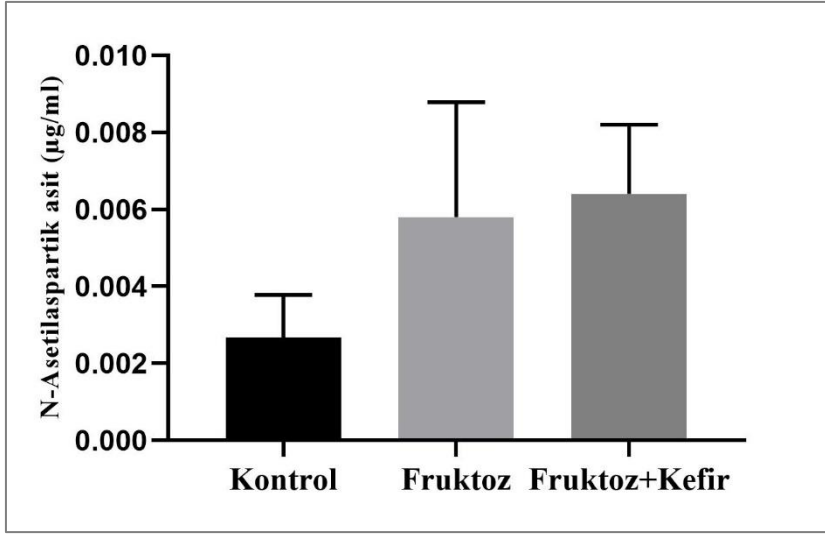


Şekil 4.19. Sıçanların feçes malik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.20. Feçeste N-asetilaspartik asit düzeyi

Fruktoz diyeti beslenen sıçanların feçes örneklerinde N-asetilaspartik asit düzeyinin kontrol grubuna göre artış eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesi ile feçes örneklerinde N-asetilaspartik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

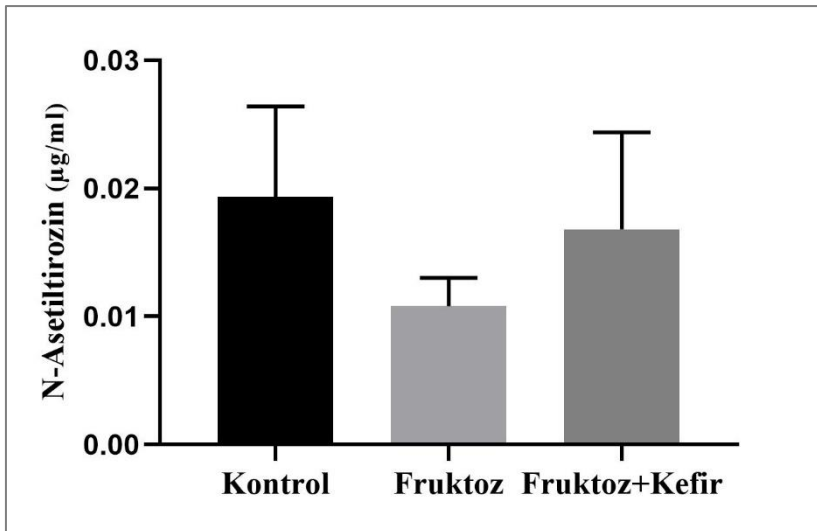


Şekil 4.20. Sıçanların feçes N-asetilaspartik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.21. Feçeste N-asetiltirozin düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde N-asetiltirozin düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde N-asetil tirozin düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

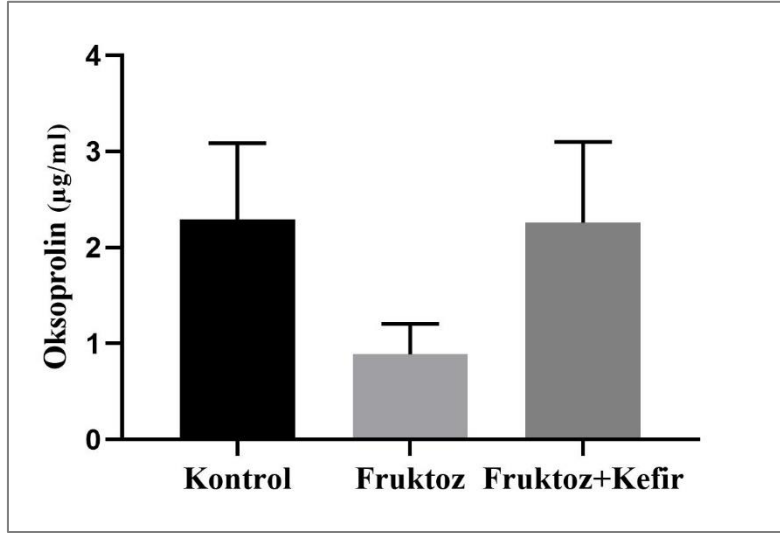


Şekil 4.21. Sıçanların feçes N-asetiltirozin düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.22. Feçeste oksoprolin düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde oksoprolin düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde oksoprolin düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

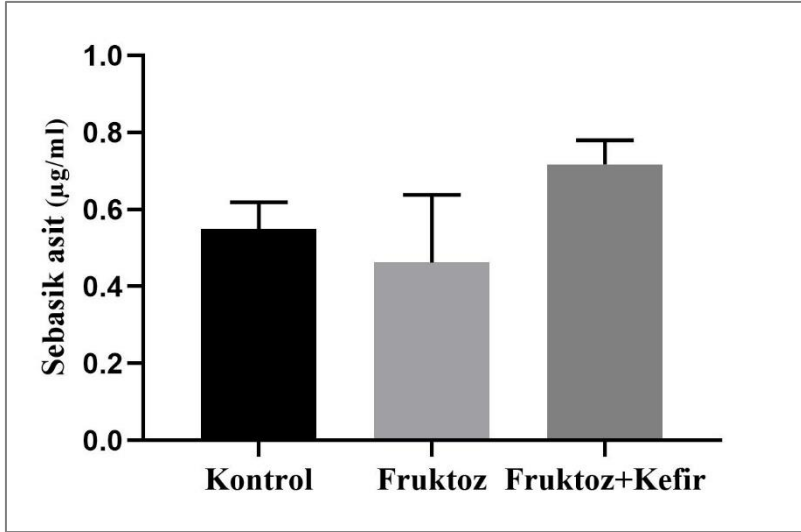


Şekil 4.22. Sıçanların feçes oksoprolin düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.23. Feçeste sebasik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde sebasik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde sebasik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

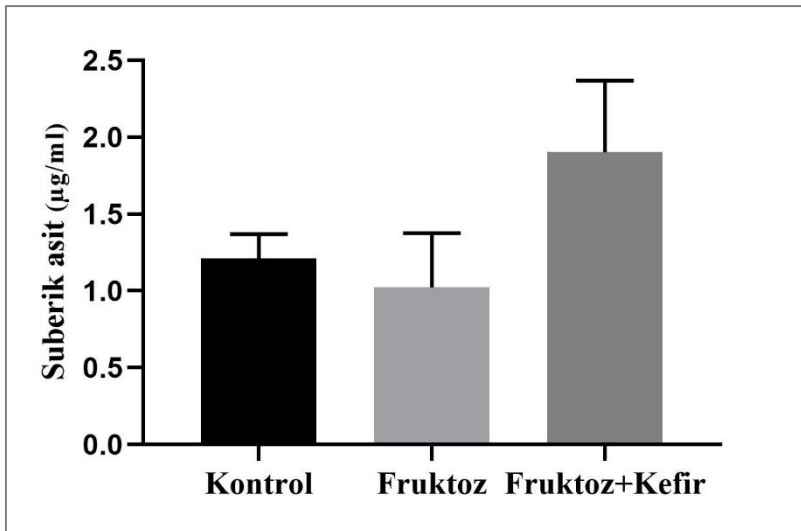


Şekil 4.23. Sıçanların feçes sebasik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.24. Feçeste suberik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde suberik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde suberik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

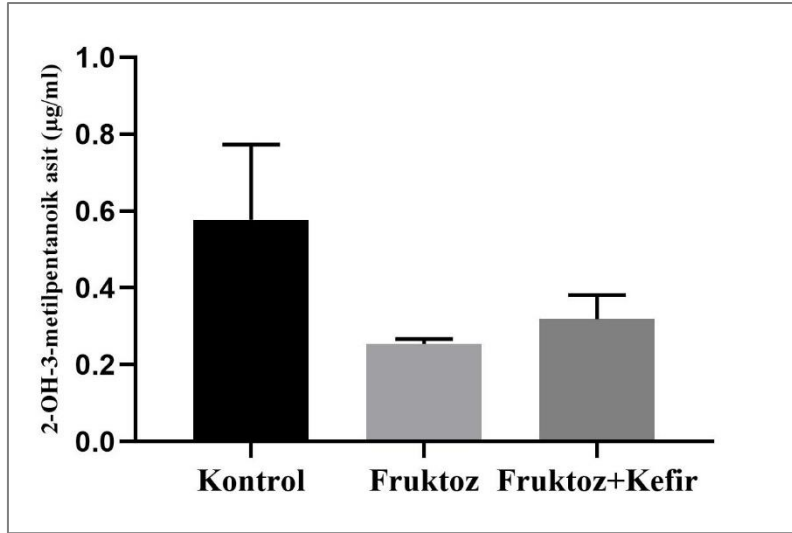


Şekil 4.24. Sıçanların feçes suberik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.25. Feçeste 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

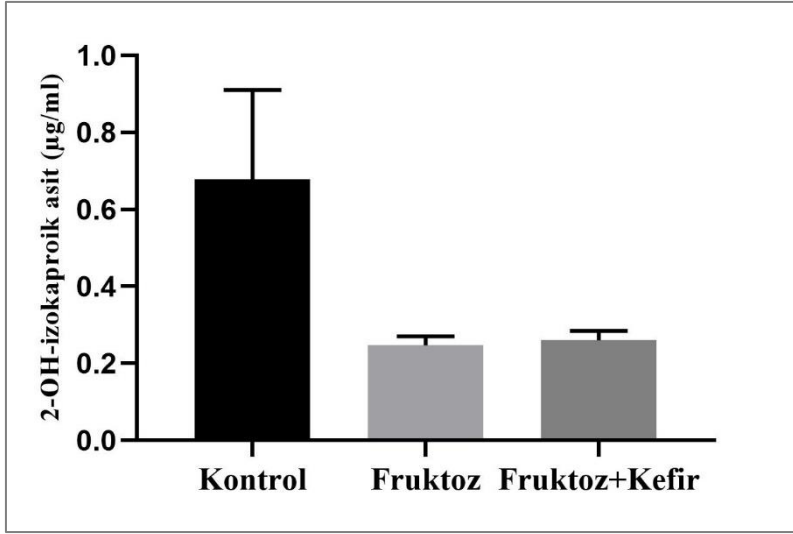


Şekil 4.25. Sıçanların feçes 2-OH-3-metilpentanoik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.26. Feçeste 2-OH-izokaproik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 2-OH-izokaproik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 2-OH-izokaproik asit düzeyinde fruktoz grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

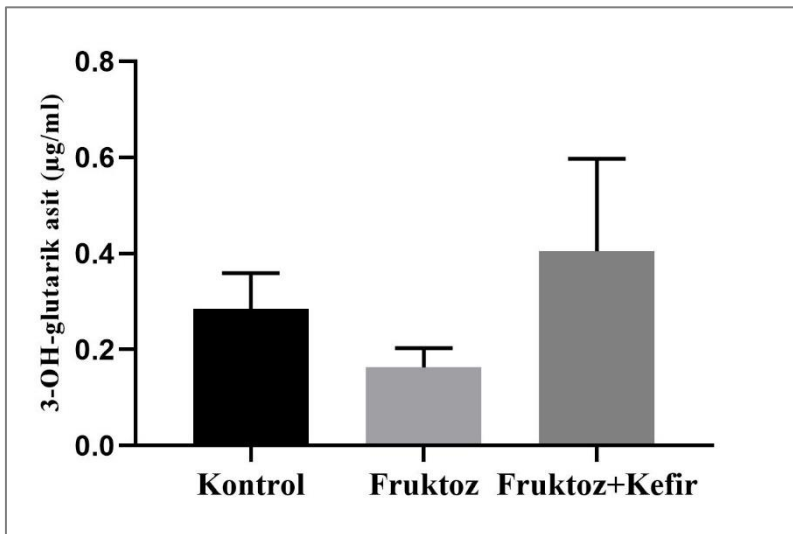


Şekil 4.26. Sıçanların feçes 2-OH-izokaproik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.27. Feçeste 3-OH-glutarik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-OH-glutarik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-OH-glutarik asit düzeyinin fruktoz grubuna göre artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

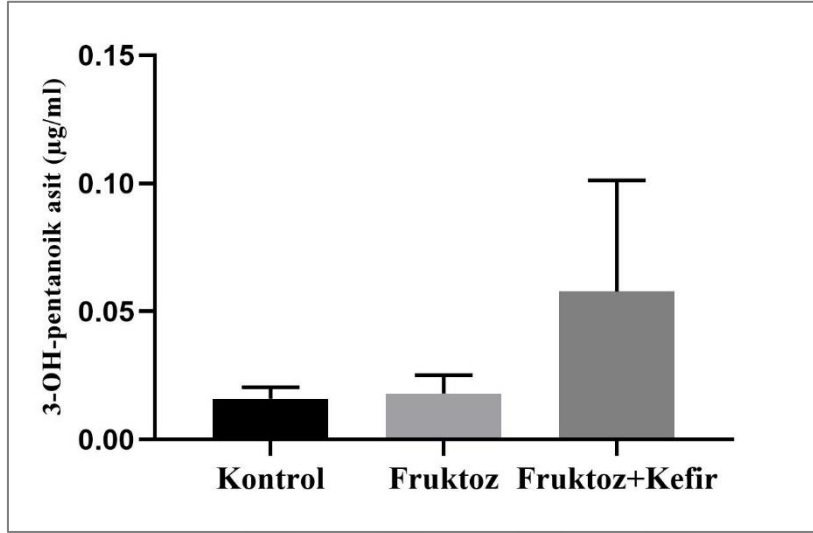


Şekil 4.27. Sıçanların feçes 3-OH-glutarik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.28. Feçeste 3-OH-pentanoik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde 3-OH-pentanoik asit düzeyinde kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde 3-OH-pentanoik asit düzeyinin artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

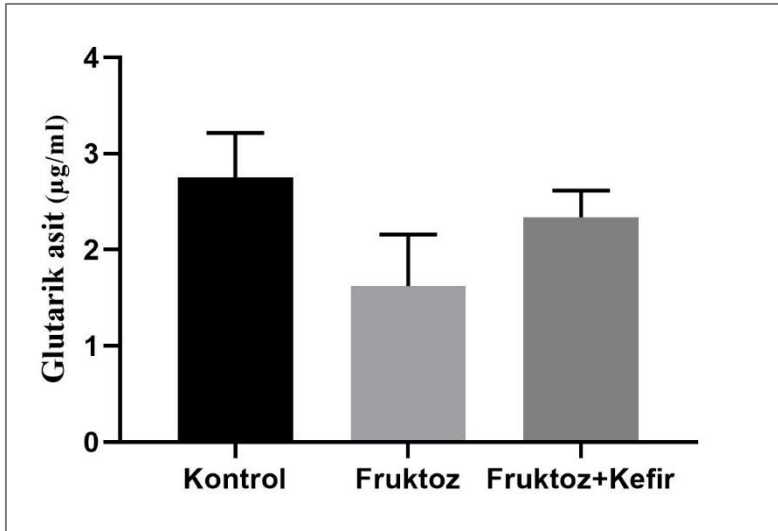


Şekil 4.28. Sıçanların feçes 3-OH-pentanoik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.29. Feçeste glutarik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde glutarik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde glutarik asit düzeyinin artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

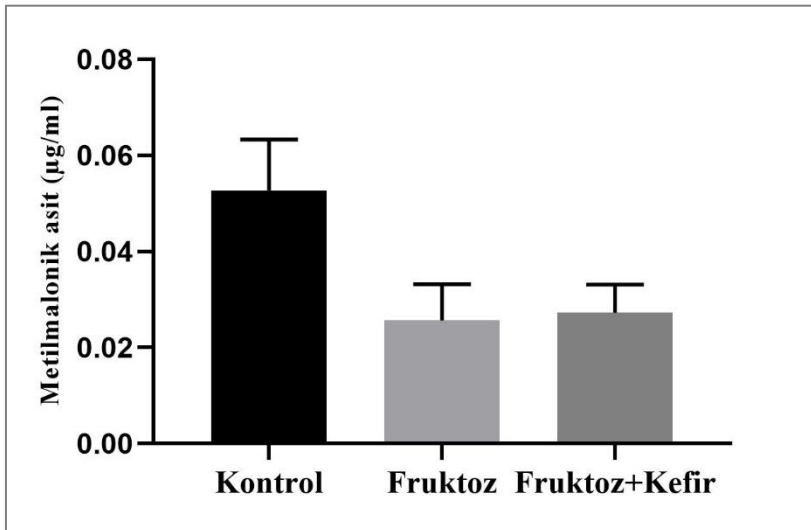


Şekil 4.29. Sıçanların feçes glutarik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.30. Feçeste metilmalonik asit düzeyi

Fruktöz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde metilmalonik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde metilmalonik asit düzeyinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

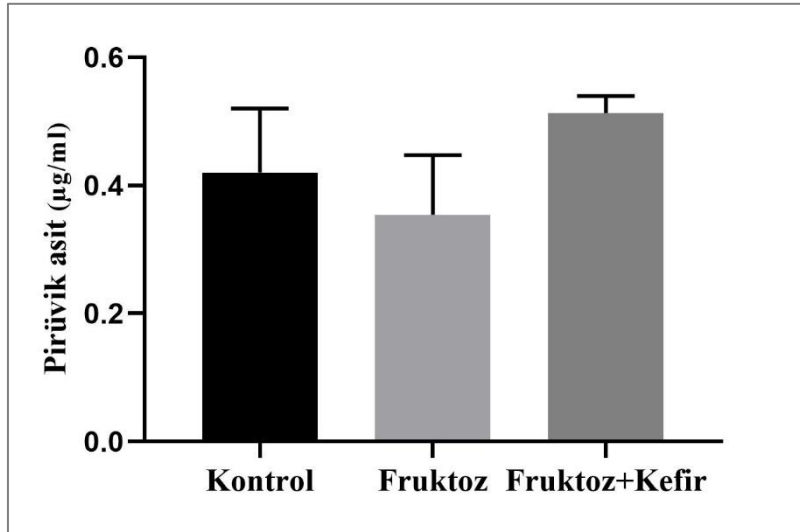


Şekil 4.30. Sıçanların feçes metilmalonik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

4.1.31. Feçeste pirüvik asit düzeyi

Fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde pirüvik asit düzeyinin kontrol grubuna göre düşüş eğilimi olduğu belirlenmiştir. Kefir takviyesiyle feçes örneklerinde pirüvik asit düzeyinin artış eğilimi gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4.31. Sıçanların feçes pirüvik asit düzeyleri

Değerler, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak belirtilmiştir. n=5-6.

5. TARTIŞMA

Metabolomik çalışmalar için kesin sonuçlu ve yüksek çözünürlüklü spektroskopik teknikler gereklidir. Metabolomik çalışmalarda tercih edilen spektroskopik teknikler, NMR spektroskopisi ve GC veya LC ile birleştirilmiş kütle spektroskopisidir. NMR yöntemi, kütle spektroskopisine göre, yüksek tekrarlanabilirlik, kolay metabolit tanımlama gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Ancak NMR yönteminin düşük çözünürlüğü ve duyarlılığı, milimolar (mM) düzeyinde metabolitlerin belirlenmesini engellemektedir. GC veya LC ile birleştirilmiş MS, her iki yöntemin de güçlü yönlerinden (kromatografik sistemin yüksek çözünürlüğü ve MS dedektörlerinin yüksek hassasiyeti) yararlanarak metabolomik analizde kullanılmaktadır. Bu kombine tekniklerde, biyolojik örneklerde bulunan binlerce metabolit, farklı kromatografik özelliklere bağlı olarak mümkün olduğunca birbirinden ayrılır. Böylece yöntemin duyarlılığı kaybedilmeden MS sistemiyle analiz edilecek metabolit sayısında bir artış sağlanmaktadır (Zeki ve diğerleri, 2020).

Feçes örneği hazırlanması, feçes matrisinin kompleks olması ve heterojenliği nedeniyle zorluk taşımaktadır. Feçeste metabolitlerin ölçümünde tam ekstraksiyon, seçici olmayan metabolom kapsamının tekrar edilebilir şekilde analizi için yüksek verimli bir yöntem gerekmektedir (Moosmang ve diğerleri, 2019). Bu tez çalışmasında, literatürde yer alan feçesteki metabolitlerin kantitatif analizi yöntemleriyle uyumlu olarak LC-MS/MS yöntemi seçilmiştir. Seçtiğimiz bu yöntemde, aynı anda birden fazla metabolit miktarının analizi, maliyet tasarrufu ve verimlilikteki artış, hızlı analiz olanağı ve yüksek ayırma gücü gibi avantajların bulunması dikkate alınmıştır.

Fruktozdan zengin hazır gıda ve meşrubatların tüketiminin artmasına paralel olarak metabolik sendrom görülme sıklığında da dünya çapında bir artış izlenmektedir. Bağırsak mikrobiyota aktivitesindeki bozulmanın metabolik sendrom etiyopatogenezinde rol oynadığı belirtilmektedir. Bu kapsamda, yüksek fruktoz diyetinin bağırsak mikrobiyota bileşimini değiştirdiği ve bağırsaktaki sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Akar ve diğerleri, 2021; D.-M. Zhang ve diğerleri, 2017; Kawabata ve diğerleri, 2021).

Moleküler tekniklerin (metagenomik, metabolomik, lipidomik, metatranskriptomik) gelişmesi sonucu, konakçı ile mikroorganizmalar arasındaki etkileşim giderek daha iyi

anlaşılmaktadır. Bağırsak mikrobiyota değişiminin, obezite, tip 2 diyabet, NAFLD, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve çeşitli kanser türleri dahil olmak üzere birçok hastalıkla bağlantılı olduğu saptanmıştır. Mikrobiyota bileşiminde oluşan değişikliklere bağlı olarak enerji, lipid ve glukoz metabolizmasında rol oynayan birçok yolağın etkilendiği öne sürülmektedir (de Vos ve diğerleri, 2022).

Bağırsak mikrobiyotasının biyoaktif birçok metabolitin oluşumuna neden olduğu saptanmıştır. Bu metabolitler, konakçının biyolojik sinyal yollarını aktive veya inhibe edebilir. Böylece, konakçı sağlığını olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen bir faktör olduğu dikkati çekmektedir. Son çalışmalar, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen bazı metabolitlerin metabolik sendrom gelişimindeki inflamatuvar süreçleri tetiklediğini göstermektedir (Vallianou ve diğerleri, 2019). Bağırsak mikrobiyotasının ve metabolitlerinin konakçı metabolizmasını ne ölçüde ve hangi mekanizmalarla etkilediği henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Günümüzde büyük bir artış eğilimi gösteren NAFLD'nin metabolik sendrom komplikasyonlarından biri olduğu bilinmektedir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bozulmanın NAFLD gelişimindeki inflamatuvar mekanizmalarla ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Yüksek fruktoz tüketimi sonucu oluşan etanol, bakteriyel ürün olarak sentezlenen lipopolisakkaritler ve bağırsak bariyer bütünlüğündeki bozulma inflamasyona katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Solga & Diehl, 2003; Waldram ve diğerleri, 2009). Laktik asit üreten gram pozitif bakterilerden biri olan *Weissella confusa* takviyesinin, yüksek yağ ve fruktoz içeren diyetle metabolik sendrom oluşturulan sıçanların feçes örneklerinde kısa zincirli yağ asitleri ve etanol miktarlarında önemli bir artış oluşturduğu saptanmıştır. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen etanolün, alkol dehidrogenaz ve sitokrom P450 2E1 ekspresyonunu indükleyerek yağ asidi sentezinin artışına bağlı steatoza yol açtığı öne sürülmektedir (Elshagabee ve diğerleri, 2020).

Yüksek fruktoz diyetinin neden olduğu metabolik sendromda, mikrobiyal metabolizma sonucu oluşan asetatin hepatik lipogeneze neden olduğu öne sürülmektedir (Zhao ve diğerleri, 2020). Yüksek fruktoz diyetine bağlı bağırsak mikrobiyotasında ortaya çıkan değişimin, lipogenez artışı ve bakteriyel metabolitlerin üretimi sonucu metabolik bozukluklara neden olduğu farzedilmektedir (Jensen ve diğerleri, 2018). Başka bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle feçeste anlamlı olarak değişen metabolitler IPA veri

tabanında eşleştirilmiştir. Sükkinik asit, laktik asit, malik asit gibi eşleşen metabolitlerin çoğunluğu, inflamatuvar hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (Wei ve diğerleri, 2015). Silva ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise yüksek fruktoz diyetiyle feçeste arttığı saptanan süksinat, fenilalanin, tirozin, ksiloz gibi metabolitler, PCA ve PLS-DA yöntemleriyle analiz edilmiştir. Bu maddelerdeki artış eğiliminin, absorbe edilmeden feçeste biriken fruktoz miktarından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Feçes metabolomunun bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkisini daha iyi anlayabilmek için her bir metaboliti Shannon çeşitliliği dâhil olmak üzere farklı faktörlerle OTU'lara karşı regrese etmek ve yorumlamak gerekmektedir.

Probiyotik veya sinbiyotik bakterilerle zenginleştirilmiş gıdaların metabolik sendromda insülin duyarlılığını ve lipit profilini önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle, bu gıdaların mikrobiyota bileşimini veya spesifik biyokimyasal yolları hedeflemede işlevsel olabileceği ileri sürülmektedir (Crocı ve diğerleri, 2021). Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda yapılan bir çalışmada, feçesteki *Bacteroidetes/Firmicutes* oranının ve kısa zincirli yağ asitleri miktarının arttığı görülmüştür. *Lactobacillus fermentum* CECT5716 ve fruktooligosakkaritlerden oluşan sinbiyotik takviyesinin bu bozulmayı düzelttiği saptanmıştır. Ayrıca, *Bacteroidetes* filumundaki değişimin *Bacteroides* türlerinin fruktozu metabolize etme özelliğiyle ilgili olduğu öne sürülmektedir (Rivero-Gutiérrez ve diğerleri, 2017). Başka bir araştırmada ise, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda *Firmicutes* miktarının arttığı, *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* miktarının azaldığı saptanmıştır. Kefir takviyesi verilen sıçanlarda ise bu değişiklikler tersine çevrildiği saptanmıştır. Ayrıca kefir takviyesiyle, hepatik lipogenik gen ekspresyonunun baskılandığı ve bağırsak sıkı bağlantı proteinlerinin arttığı gösterilmiştir (Akar ve diğerleri, 2021). Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen ve kefir takviyesi yapılan hayvanların feçes örneklerinde organik asit düzeylerindeki değişim aşağıda tartışılmıştır.

Glutakonik asit, dikarboksilik asit türevi bir bileşiktir. Kalıtsal bir metabolik hastalık olan glutarik asidüride bireylerin idrarında glutakonik asit varlığı biyolojik gösterge olarak kullanılmaktadır. Goudarzi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, radyasyona maruz kalan farelerin feçesinde doza bağımlı olarak glutakonik asit düzeyinin azaldığı saptanmıştır (Goudarzi ve diğerleri, 2016). Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyeti alan sıçanların feçes örneklerinde glutakonik asit düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı saptanmıştır. İlginç olarak, kefir takviyesinin bu azalmayı tersine çevirerek kontrol düzeyine yaklaştırdığı

görülmektedir. Feçeste gözlemlenen glutakonik asit değişiminin metabolik hastalıklarla ilişkisini çözebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Homogentisik asit, tirozin ve fenilalanin katabolizmasında yer alan bir ara üründür. Radyasyona maruz kalan farelerin feçeslerinde gözlenen homogentisik asit miktarındaki azalma, *Desulfovibrio* bakterilerinin miktarındaki azalmayla ilişkili bulunmuştur (Goudarzi ve diğerleri, 2016). Yaptığımız tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerin feçes örneklerinde homogentisik asit miktarında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Fruktozlu diyet uygulaması sonucu saptanan homogentisik asit miktarındaki azalma, bağırsak mikrobiyota içeriğindeki *Desulfovibrio* bakterilerinin miktarındaki azalmayla ilişkili olabilir. Ayrıca, kefir takviyesiyle homogentisik asit miktarındaki artış eğilimi, bu bakteri miktarındaki artışa bağlı olarak gerçekleşmiş olabilir.

3-fenillaktik asit, fenilalanin metabolizmasında yer alan polar bir metabolit olduğu bilinmektedir. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin metabolizması sonucu üretilen 3-fenillaktik asidin antimikrobiyal ve antifungal etkisi bulunmaktadır (Z. Zhang ve diğerleri, 2018). Trošt ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, sağlıklı katılımcıların feçes örneklerinde tespit edilen polar metabolitler ve lipidlerin kısmi korelasyon ağı, Least Absolute Shrinkage and Selection Operator (LASSO) algoritmasıyla oluşturulmuştur. Bu çalışmada, 3-fenillaktik asidin, metabolitlerle en iyi korelasyon gösteren ürün olduğu saptanmıştır. Araştırmada, 3-fenillaktik asit oluşumunun, 5-oksoprolin, 4-OH-fenillaktik asit, timin, 2-OH-izokaproik asit oluşumu ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Trošt ve diğerleri, 2020). Bu çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçeslerinde 3-fenillaktik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Fruktoz tüketimine bağlı azalan bu metabolitin, *Lactobacillus* cinsi bakteri miktarındaki azalmayla ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Fruktozlu diyetle ilgili olarak feçes örneklerinde anlamlı değişim saptadığımız 2-OH-fenilasetik asit, 4-OH-fenillaktik asit, 2-OH-glutarik asit, sitrik asit ve etilmalonik asit düzeylerinin feçesteki değişimiyle ilgili literatürde herhangi bir araştırma olmadığını saptamış bulunmaktayız. Ölçülen organik asitlerin bakterilerle ilişkisinin saptanması için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu organik asitlerdeki değişimin, fruktoz diyetine bağlı olarak gelişen metabolik sendromda bir biyobelirteç olarak belirlenmesi, hastalığın teşhisinde değerli bir araç olma imkanı yaratacaktır. Bununla birlikte, fenilketonüri

hastalığında idrarda 2-OH-fenilasetik asit ve 4-OH-fenillaktik asit miktarında artış görülmektedir (Rampini ve diğerleri, 1974). Glutarik asidüri hastalığında idrarda 2-OH-glutarik asit tespit edilmektedir (Muntau ve diğerleri, 2000). Fenilketonüri ve akçaagaç şurubu idrar hastalığında idrarda sitrik asit miktarının arttığı bildirilmiştir (Gronwald ve diğerleri, 2008). Malonil-koenzim A dekarboksilaz eksikliği ve kısa zincirli açıl-koenzim A eksikliğinde idrarda etilmalonik asit miktarının arttığı saptanmıştır (Oglesbee ve diğerleri, 2007). Bu bulguların bizim sonuçlarımızla ilişkisinin nasıl olduğu saptanamamıştır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, laktat bileşiğinin *Salmonella enterica* serovar Typhimurium gibi patojen bakterilerin miktarını arttırabileceğini ortaya koymuştur. *Salmonella* enfeksiyonu, kolon epitelinde glukozdan L-laktat üretimini arttırmaktadır (Gillis ve diğerleri, 2018). Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde laktik asit düzeyinde kontrol grubuna göre artış eğilimi gösterilmiştir. Yüksek fruktoz diyetiyle gözlemlenen bu artış eğilimi, patojen bakterilerin büyümesi ile açıklanabilir. Ayrıca kefir takviyesiyle laktik asit düzeyinde bir düşüş eğilimi saptadık. Kefirin bu etkisi, patojen bakterilerin engellenmesiyle ilişkili olabilir.

Süksinat, Krebs döngüsünün ara ürünü olarak bilinmektedir. Aynı zamanda bakterilerden üretilen metabolik bir bileşiktir. İnsülin direnci, obezite ve inflamasyonla süksinat arasındaki ilişki henüz aydınlatılmamıştır. Yüksek yağ ve yüksek sakkaroz diyeti uygulanan farelerde yapılan bir çalışmada, süksinatın glisemik kontrol ve enerji metabolizmasında düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir (De Vadder ve diğerleri, 2016). Farelerde yapılan başka bir çalışmada ise süksinat, inflamasyonda interlökin-1b üretimini artıran bir metabolit olarak tanımlanmıştır (Tannahill ve diğerleri, 2013). Connors ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, süksinat birikimiyle intestinal lümende osmotik basıncın arttığı, bağırsaktaki su absorpsiyonunun azaldığı, böylece sulu dışkılamaya neden olduğu öne sürülmüştür (Connors ve diğerleri, 2018). Verilerimiz, fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların feçes örneklerinde süksinik asit düzeyinde bir azalma eğilimi olduğunu göstermektedir. Süksinat düzeyindeki bu düşüş eğiliminin fruktozlu diyetle bağlı olarak gelişen metabolik sendromda enerji metabolizmasının bozulması ve inflamasyonla ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir.

Metabolomik çalışmalarda, metabolomik profili ortaya çıkarmak için aynı anda birçok metabolitin kapsamlı analizi yapılmaktadır. Bu tez çalışmasında, 15 hafta boyunca içme suyu içerisinde %20 fruktoz verilen ve metabolik sendrom oluşturulan sıçanların rektal feçes

örneklerinde metabolit analizleri sadece organik asit içeriği bakımından LC-MS/MS yöntemi ile incelenmiştir. Fruktozun doza bağımlı etkilerini organik asit miktarı ve kapsamlı metabolit analizi bakımından değerlendirmek yararlı olabilir. Ayrıca, farklı zaman noktalarında feçes örneğinde analiz yapılmaması, metabolitlerin zamana bağlı değişiminin olup olmadığını göstermemektedir. Ayrıca, metabolomik profilin detaylandırılması için bağırsak mikrobiyota bileşimiyle serum ve diğer dokulardan alınacak örneklerdeki metabolit analizlerinin yapılması daha fonksiyonel olabilir.

Metabolik sendromda bağırsak mikrobiyotasıyla metabolitler arasındaki ilişkinin daha kapsamlı araştırılmasıyla, biyokimyasal yolların ve potansiyel biyobelirteçlerin belirlenebileceği düşünülmektedir. Bu sayede, metabolik sendrom tedavisi için diyet önerileri ve mikrobiyota hedefli tedavi alternatifleri güncellenebilecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde fruktozdan zengin hazır gıda tüketimindeki artışa paralel olarak metabolik sendrom sıklığının artışı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, metabolik sendrom gelişiminin bağırsak mikrobiyotasının bozulmasıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasının probiyotik gıdalarla modifikasyonu hastalık tablosunda umut verici gelişmelere işaret etmektedir.

Bu tez çalışmasında, metabolik sendrom etiyopatogenezindeki biyokimyasal yolları aydınlatmak ve potansiyel biyobelirteçleri belirleyebilmek için sıçanların feçes örneklerinde organik asitler tayin edilmiştir. Feçes düzeylerinde değişim saptadığımız organik asitlerin metabolik sendrom patogenezindeki önemi sonraki çalışmalarda ortaya konulabilecektir. Bu çalışmada, kefirin anlamlı değişim oluşturduğu organik asit sayısı sınırlı olmasına rağmen, daha önce yapılmış deney hayvanları ve klinik çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, bu probiyotik karışımının metabolik sendrom tedavisinde destekleyici ucuz tedavi alternatifi olabileceği ileri sürülebilir.



KAYNAKLAR

- Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., Adams, R. J., Aekplakorn, W., Afsana, K. and Aguilar-Salinas, C. A. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128· 9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627-2642.
- Ackerman, Z., Oron-Herman, M., Grozovski, M., Rosenthal, T., Pappo, O., Link, G., and Sela, B.-A. (2005). Fructose-induced fatty liver disease: Hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension*, 45(5), 1012-1018.
- Adelman, R. C., Ballard, F. J. and Weinhouse, S. (1967). Purification and properties of rat liver fructokinase. *Journal of Biological Chemistry*, 242(14), 3360-3365.
- Akar, F., Sumlu, E., Alçığır, M. E., Bostancı, A. and Sadi, G. (2021). Potential mechanistic pathways underlying intestinal and hepatic effects of kefir in high-fructose-fed rats. *Food Research International*, 143, 110287.
- Akar, F., Uludağ, O., Aydın, A., Aytekin, Y. A., Elbeg, S., Tuzcu, M. and Sahin, K. (2012). High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: Protective effect of resveratrol. *Food and chemical toxicology*, 50(6), 2135-2141.
- Alberti, K. G. (2009). International diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; international association for the study of obesity: Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; and international association for the study of obesity. *Circulation*, 120, 1640-1645.
- Ameer, F., Scandiuzzi, L., Hasnain, S., Kalbacher, H. and Zaidi, N. (2014). De novo lipogenesis in health and disease. *Metabolism*, 63(7), 895-902.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T. and Batto, J. M. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174-180.
- Babacanoglu, C., Yildirim, N., Sadi, G., Pektas, M. B. and Akar, F. (2013). Resveratrol prevents high-fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 160-167.
- Backhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A. and Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717), 1915-1920.
- Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F. and Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(3), 979-984.
- Bell, V., Ferrão, J., Pimentel, L., Pintado, M. and Fernandes, T. (2018). One health, fermented foods, and gut microbiota. *Foods*, 7(12), 195.

- Bellikci-Koyu, E., Sarer-Yurekli, B. P., Akyon, Y., Aydin-Kose, F., Karagozlu, C., Ozgen, A. G., Brinkmann, A., Nitsche, A., Ergunay, K. and Yilmaz, E. (2019). Effects of regular kefir consumption on gut microbiota in patients with metabolic syndrome: A parallel-group, randomized, controlled study. *Nutrients*, 11(9), 2089.
- Bengoa, A. A., Iraporda, C., Garrote, G. L. and Abraham, A. G. (2019). Kefir micro-organisms: Their role in grain assembly and health properties of fermented milk. *Journal of applied microbiology*, 126(3), 686-700.
- Billiet, L., Doaty, S., Katz, J. D. and Velasquez, M. T. (2014). Review of hyperuricemia as new marker for metabolic syndrome. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1-7.
- Borges, R. L., Ribeiro, A. B., Zanella, M. T. and Batista, M. C. (2010). Uric acid as a factor in the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, 12(2), 113-119.
- Burcelin, R., Luche, E., Serino, M. and Amar, J. (2009). The gut microbiota ecology: A new opportunity for the treatment of metabolic diseases. *Front Biosci*, 14(1), 5107-5117.
- Caliceti, C., Calabria, D., Roda, A. and Cicero, A. F. (2017). Fructose intake, serum uric acid, and cardiometabolic disorders: A critical review. *Nutrients*, 9(4), 395.
- Cani, P. D. and Van Hul, M. (2015). Novel opportunities for next-generation probiotics targeting metabolic syndrome. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 21-27.
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M. and Chabo, C. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761-1772.
- Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Maton, N. and Delzenne, N. M. (2005). Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: Involvement of glucagon-like peptide-1. *Obesity Research*, 13(6), 1000-1007.
- Carasi, P., Racedo, S. M., Jacquot, C., Romanin, D. E., Serradell, M. A. and Urdaci, M. C. (2015). Impact of kefir derived *Lactobacillus kefir* on the mucosal immune response and gut microbiota. *Journal of Immunology Research*, 2015, 12.
- Chang, P. V., Hao, L., Offermanns, S. and Medzhitov, R. (2014). The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), 2247-2252.
- Chaplin, A., Carpené, C. and Mercader, J. (2018). Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutrients*, 10(11), 1651.
- Clarke, K. G. (2013). *Bioprocess engineering: An introductory engineering and life science approach*. Amsterdam: Elsevier, 63-69.
- Connors, J., Dawe, N., and Van Limbergen, J. (2018). The role of succinate in the regulation of intestinal inflammation. *Nutrients*, 11(1), 25.
- Croci, S., D'Apolito, L. I., Gasperi, V., Catani, M. V. and Savini, I. (2021). Dietary strategies for management of metabolic syndrome: Role of gut microbiota metabolites. *Nutrients*, 13(5), 1389.
- Da Silva, L. A., De Marcucci, O. L. and Carmona, A. (1992). Adaptive changes in total pyruvate dehydrogenase activity in lipogenic tissues of rats fed high-sucrose or high-fat diets. *Comparative Biochemistry and physiology. Comparative Physiology*, 103(2), 407-411.

- Dabke, K., Hendrick, G. and Devkota, S. (2019). The gut microbiome and metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, *129*(10), 4050-4057.
- Dai, Z.-L., Wu, G. and Zhu, W. Y. (2011). Amino acid metabolism in intestinal bacteria: Links between gut ecology and host health. *Front Biosci*, *16*(1), 1768-1786.
- De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Zitoun, C., Duchamp, A., Bäckhed, F. and Mithieux, G. (2016). Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis. *Cell Metabolism*, *24*(1), 151-157.
- de Vos, W. M. and de Vos, E. A. (2012). Role of the intestinal microbiome in health and disease: From correlation to causation. *Nutrition Reviews*, *70*(suppl_1), S45-S56.
- de Vos, W. M., Tilg, H., Van Hul, M. and Cani, P. D. (2022). Gut microbiome and health: Mechanistic insights. *Gut*, *71*(5), 1020-1032.
- Dominguez Bello, M. G., Godoy Vitorino, F., Knight, R. and Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, *68*(6), 1108-1114.
- Elder, S. J., Lichtenstein, A. H., Pittas, A. G., Roberts, S. B., Fuss, P. J., Greenberg, A. S., McCrory, M. A., Bouchard, T. J., Saltzman, E. and Neale, M. C. (2009). Genetic and environmental influences on factors associated with cardiovascular disease and the metabolic syndrome. *Journal of Lipid Research*, *50*(9), 1917-1926.
- Elliott, S. S., Keim, N. L., Stern, J. S., Teff, K. and Havel, P. J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *76*(5), 911-922.
- Elshagabee, F. M., Ghadimi, D., Habermann, D., de Vrese, M., Bockelmann, W., Kaatsch, H. J., Heller, K. J. and Schrezenmeir, J. (2020). Effect of oral administration of *Weissella confusa* on fecal and plasma ethanol concentrations, lipids and glucose metabolism in wistar rats fed high fructose and fat diet. *Hepatic Medicine: Evidence and Research*, *12*, 93.
- Fathi, Y., Faghih, S., Zibaenezhad, M. J. and Tabatabaei, S. H. R. (2016). Kefir drink leads to a similar weight loss, compared with milk, in a dairy-rich non-energy-restricted diet in overweight or obese premenopausal women: A randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*, *55*(1), 295-304.
- Ferraris, R. P., Choe, J. and Patel, C. R. (2018). Intestinal absorption of fructose. *Annual Review of Nutrition*, *38*, 41-67.
- Fuentes, M. C., Lajo, T., Carrión, J. M. and Cuné, J. (2013). Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. *British Journal of Nutrition*, *109*(10), 1866-1872.
- Fujisaka, S., Avila-Pacheco, J., Soto, M., Kostic, A., Dreyfuss, J. M., Pan, H., Ussar, S., Altindis, E., Li, N. and Bry, L. (2018). Diet, genetics, and the gut microbiome drive dynamic changes in plasma metabolites. *Cell Reports*, *22*(11), 3072-3086.
- Gillis, C. C., Hughes, E. R., Spiga, L., Winter, M. G., Zhu, W., de Carvalho, T. F., Chanin, R. B., Behrendt, C. L., Hooper, L. V. and Santos, R. L. (2018). Dysbiosis-associated change in host metabolism generates lactate to support *Salmonella* growth. *Cell Host & Microbe*, *23*(1), 54-64.
- Goran, M. I., Uliaszek, S. J. and Ventura, E. E. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: A global perspective. *Global Public Health*, *8*(1), 55-64.

- Goudarzi, M., Mak, T. D., Jacobs, J. P., Moon, B.-H., Strawn, S. J., Braun, J., Brenner, D. J., Fornace Jr, A. J. and Li, H.-H. (2016). An integrated multi-omic approach to assess radiation injury on the host-microbiome axis. *Radiation Research*, 186(3), 219-234.
- Gronwald, W., Klein, M. S., Kaspar, H., Fagerer, S. R., Nürnberger, N., Dettmer, K., Bertsch, T., and Oefner, P. J. (2008). Urinary metabolite quantification employing 2D NMR spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 80(23), 9288–9297.
- Grundy, S. M. (2004). Cholesterol gallstones: a fellow traveler with metabolic syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(1), 1-2.
- Grundy, S. M. (2016). Overnutrition, ectopic lipid and the metabolic syndrome. *Journal of Investigative Medicine*, 64(6), 1082-1086.
- Haidari, M., Leung, N., Mahbub, F., Uffelman, K. D., Kohen-Avramoglu, R., Lewis, G. F. and Adeli, K. (2002). Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance: Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *Journal of Biological Chemistry*, 277(35), 31646-31655.
- Hannou, S. A., Haslam, D. E., McKeown, N. M., and Herman, M. A. (2018). Fructose metabolism and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(2), 545-555.
- Hashemi, Z., Foughse, J., Im, H. S., Chan, C. B. and Willing, B. P. (2017). Dietary pea fiber supplementation improves glycemia and induces changes in the composition of gut microbiota, serum short chain fatty acid profile and expression of mucins in glucose intolerant rats. *Nutrients*, 9(11), 1236.
- Heinz, F., LAMPRECHT, W. and KIRSCHE, J. (1968). Enzymes of fructose metabolism in human liver. *The Journal of Clinical Investigation*, 47(8), 1826-1832.
- Herman, M. A. and Samuel, V. T. (2016). The sweet path to metabolic demise: Fructose and lipid synthesis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 27(10), 719-730.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J. and Salminen, S. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology Hepatology*, 506.
- Hove, H., Nordgaard-Andersen, I. and Mortensen, P. B. (1994). Faecal DL-lactate concentration in 100 gastrointestinal patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(3), 255-259.
- Hwang, I. S., Ho, H., Hoffman, B. B. and Reaven, G. M. (1987). Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, 10(5), 512-516.
- Indiani, C. M. dos S. P., Rizzardi, K. F., Castelo, P. M., Ferraz, L. F. C., Darrieux, M. and Parisotto, T. M. (2018). Childhood obesity and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the gut microbiota: A systematic review. *Childhood Obesity*, 14(8), 501-509.
- Ishimoto, T., Lanaspa, M. A., Le, M. T., Garcia, G. E., Diggie, C. P., MacLean, P. S., Jackman, M. R., Asipu, A., Roncal-Jimenez, C. A. and Kosugi, T. (2012). Opposing effects of fructokinase C and A isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(11), 4320-4325.

- Jang, C., Hui, S., Lu, W., Cowan, A. J., Morscher, R. J., Lee, G., Liu, W., Tesz, G. J., Birnbaum, M. J. and Rabinowitz, J. D. (2018). The small intestine converts dietary fructose into glucose and organic acids. *Cell Metabolism*, 27(2), 351-361.
- Jensen, T., Abdelmalek, M. F., Sullivan, S., Nadeau, K. J., Green, M., Roncal, C., Nakagawa, T., Kuwabara, M., Sato, Y. and Kang, D.-H. (2018). Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 68(5), 1063-1075.
- Johnson, R. J., Nakagawa, T., Sanchez-Lozada, L. G., Shafiu, M., Sundaram, S., Le, M., Ishimoto, T., Sautin, Y. Y. and Lanaspas, M. A. (2013). Sugar, uric acid, and the etiology of diabetes and obesity. *Diabetes*, 62(10), 3307-3315.
- Jumpertz, R., Le, D. S., Turnbaugh, P. J., Trinidad, C., Bogardus, C., Gordon, J. I. and Krakoff, J. (2011). Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94(1), 58-65.
- Kawabata, K., Kanmura, S., Morinaga, Y., Tanaka, A., Makino, T., Fujita, T., Arima, S., Si, F., Nasu, Y., Tanoue, S., Hashimoto, S. and Ido, A. (2019). A high-fructose diet induces epithelial barrier dysfunction and exacerbates the severity of dextran sulfate sodium-induced colitis. *International Journal of Molecular Medicine*, 43, 1487-1496.
- Keim, N. L., Stanhope, K. L. and Havel, P. J. (2015). Fructose and high-fructose corn syrup. *Encyclopedia of Food and Health*, 119-124.
- Kim, E., Coelho, D. and Blachier, F. (2013). Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. *Nutrition Research*, 33(12), 983-994.
- Kimura, I., Ozawa, K., Inoue, D., Imamura, T., Kimura, K., Maeda, T., Terasawa, K., Kashihara, D., Hirano, K. and Tani, T. (2013). The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature Communications*, 4(1), 1-12.
- Kok, C. R. and Hutkins, R. (2018). Yogurt and other fermented foods as sources of health-promoting bacteria. *Nutrition Reviews*, 76(1), 4-15.
- Koo, H.-Y., Wallig, M. A., Chung, B. H., Nara, T. Y., Cho, B. S. and Nakamura, M. T. (2008). Dietary fructose induces a wide range of genes with distinct shift in carbohydrate and lipid metabolism in fed and fasted rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1782(5), 341-348.
- Koster, A., Stenholm, S., Alley, D. E., Kim, L. J., Simonsick, E. M., Kanaya, A. M., Visser, M., Houston, D. K., Nicklas, B. J. and Tyllavsky, F. A. (2010). Body fat distribution and inflammation among obese older adults with and without metabolic syndrome. *Obesity*, 18(12), 2354-2361.
- Kwitek, A. E. (2019). Rat models of metabolic syndrome. *İçinde Rat Genomics*. New York: Springer, 269-285
- Lambertz, J., Weiskirchen, S., Landert, S. and Weiskirchen, R. (2017). Fructose: A dietary sugar in crosstalk with microbiota contributing to the development and progression of non-alcoholic liver disease. *Frontiers in Immunology*, 8, 1159.
- Lanaspas, M. A., Ishimoto, T., Li, N., Cicerchi, C., Orlicky, D. J., Ruzyski, P., Rivard, C., Inaba, S., Roncal-Jimenez, C. A. and Bales, E. S. (2013). Endogenous fructose production and metabolism in the liver contributes to the development of metabolic syndrome. *Nature Communications*, 4(1), 1-9.

- Le Barz, M., Anhê, F. F., Varin, T. V., Desjardins, Y., Levy, E., Roy, D., Urdaci, M. C. and Marette, A. (2015). Probiotics as complementary treatment for metabolic disorders. *Diabetes & Metabolism Journal*, 39(4), 291-303.
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J.-M. and Kennedy, S. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500(7464), 541-546.
- Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S. and Gordon, J. I. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022-1023.
- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., Arumugam, M., Kultima, J. R., Prifti, E. and Nielsen, T. (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nature Biotechnology*, 32(8), 834-841.
- Li, M., Wang, B., Zhang, M., Rantalainen, M., Wang, S., Zhou, H., Zhang, Y., Shen, J., Pang, X. and Zhang, M. (2008). Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(6), 2117-2122.
- Liao, Z., Zhang, S., Liu, W., Zou, B., Lin, L., Chen, M., Liu, D., Wang, M., Li, L. and Cai, Y. (2019). LC-MS-based metabolomics analysis of Berberine treatment in ulcerative colitis rats. *Journal of Chromatography B*, 1133, 121848.
- Malik, V. S. and Hu, F. B. (2022). The role of sugar-sweetened beverages in the global epidemics of obesity and chronic diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 1-14.
- Marcobal, A., Kashyap, P. C., Nelson, T. A., Aronov, P. A., Donia, M. S., Spormann, A., Fischbach, M. A. and Sonnenburg, J. (2013). A metabolomic view of how the human gut microbiota impacts the host metabolome using humanized and gnotobiotic mice. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 7(10), 1933-1943.
- Mayes, P. A. (1993). Intermediary metabolism of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(5), 754S-765S.
- Merino, B., Fernández-Díaz, C. M., Cózar-Castellano, I. and Perdomo, G. (2019). Intestinal fructose and glucose metabolism in health and disease. *Nutrients*, 12(1), 94.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arbolea Montes, S. and Mancabelli, L. (2017). The first microbial colonizers of the human gut: Composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4), e00036-17.
- Moeller, S. M., Fryhofer, S. A., Osbahr III, A. J., Robinowitz, C. B., Science, C. on, & Public Health, A. M. A. (2009). The effects of high fructose syrup. *Journal of the American College of Nutrition*, 28(6), 619-626.
- Montrose, D. C., Nishiguchi, R., Basu, S., Staab, H. A., Zhou, X. K., Wang, H., Meng, L., Johncilla, M., Cubillos-Ruiz, J. R. and Morales, D. K. (2021). Dietary fructose alters the composition, localization, and metabolism of gut microbiota in association with worsening colitis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 11(2), 525-550.
- Moorhouse, J. A. and Kark, R. M. (1957). Fructose and diabetes. *The American Journal of Medicine*, 23(1), 46-58.

- Moosmang, S., Pitscheider, M., Sturm, S., Seger, C., Tilg, H., Halabalaki, M. and Stuppner, H. (2019). Metabolomic analysis—Addressing NMR and LC-MS related problems in human feces sample preparation. *Clinica Chimica Acta*, 489, 169-176.
- Morishima, S., Oda, N., Ikeda, H., Segawa, T., Oda, M., Tsukahara, T., Kawase, Y., Takagi, T., Naito Y., Fujibayashi, M. and Inoue, R. (2021). Altered Fecal Microbiotas and Organic Acid Concentrations Indicate Possible Gut Dysbiosis in University Rugby Players: An Observational Study. *Microorganisms*, 9(8), 1687.
- Mottillo, S., Filion, K. B., Genest, J., Joseph, L., Pilote, L., Poirier, P., Rinfret, S., Schiffrin, E. L. and Eisenberg, M. J. (2010). The metabolic syndrome and cardiovascular risk: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(14), 1113-1132.
- Muller, L. and Ruffieux, B. (2020). What makes a front-of-pack nutritional labelling system effective: The impact of key design components on food purchases. *Nutrients*, 12(9), 2870.
- Muntau, A. C., Röschinger, W., Merckenschlager, A., van der Knaap, M. S., Jakobs, C., Duran, M., Hoffmann, G. F., and Roscher, A. A. (2000). Combined D-2- and L-2-hydroxyglutaric aciduria with neonatal onset encephalopathy: a third biochemical variant of 2-hydroxyglutaric aciduria?. *Neuropediatrics*, 31(3), 137–140.
- Nabarro, J. D. N., Beck, J. C. and Stowers, J. M. (1955). Fructose in the treatment of severe diabetic ketosis. *Lancet*, 269, 1271-1274.
- Nakagawa, T., Hu, H., Zharikov, S., Tuttle, K. R., Short, R. A., Glushakova, O., Ouyang, X., Feig, D. I., Block, E. R. and Herrera-Acosta, J. (2006). A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 290(3), F625-F631.
- Nguyen, Q. P., Karagas, M. R., Madan, J. C., Dade, E., Palys, T. J., Morrison, H. G., Pathmasiri, W. W., McRitche, S., Sumner, S. J. and Frost, H. R. (2021). Associations between the gut microbiome and metabolome in early life. *Bio Medical Center Microbiology*, 21(1), 1-19.
- Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W. and Pettersson, S. (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336(6086), 1262-1267.
- Nikbakht, E., Khalesi, S., Singh, I., Williams, L. T., West, N. P. and Colson, N. (2018). Effect of probiotics and synbiotics on blood glucose: A systematic review and meta-analysis of controlled trials. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 95-106.
- Oglesbee, D., He, M., Majumder, N., Vockley, J., Ahmad, A., Angle, B., Burton, B., Charrow, J., Ensenuer, R., Ficicioglu, C. H., Keppen, L. D., Marsden, D., Tortorelli, S., Hahn, S. H., and Matern, D. (2007). Development of a newborn screening follow-up algorithm for the diagnosis of isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 9(2), 108–116.
- Oliphant, K. and Allen-Vercos, E. (2019). Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: Major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome*, 7(1), 1-15.
- Oppelt, S. A., Sennott, E. M. and Tolan, D. R. (2015). Aldolase-B knockout in mice phenocopies hereditary fructose intolerance in humans. *Molecular Genetics and Metabolism*, 114(3), 445-450.
- Ostadrahimi, A., Taghizadeh, A., Mobasser, M., Farrin, N., Payahoo, L., Gheshlaghi, Z. B. and Vahedjabbari, M. (2015). Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iranian Journal of Public Health*, 44(2), 228.

- Park, O.-J., Cesar, D., Faix, D., Wu, K., Shackleton, C. H. and Hellerstein, M. K. (1992). Mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridaemia in the rat. Activation of hepatic pyruvate dehydrogenase through inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase. *Biochemical Journal*, 282(3), 753-757.
- Patel, C., Douard, V., Yu, S., Gao, N. and Ferraris, R. P. (2015). Transport, metabolism, and endosomal trafficking-dependent regulation of intestinal fructose absorption. *The FASEB Journal*, 29(9), 4046-4058.
- Pedersen, H. K., Gudmundsdottir, V., Nielsen, H. B., Hyotylainen, T., Nielsen, T., Jensen, B. A., Forslund, K., Hildebrand, F., Prifti, E. and Falony, G. (2016). Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*, 535(7612), 376-381.
- Pektaş, M. B., Sadi, G. and Akar, F. (2015). Long-term dietary fructose causes gender-different metabolic and vascular dysfunction in rats: Modulatory effects of resveratrol. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37(4), 1407-1420.
- Pražnikar, Z. J., Kenig, S., Vardjan, T., Bizjak, M. Č. and Petelin, A. (2020). Effects of kefir or milk supplementation on zonulin in overweight subjects. *Journal of Dairy Science*, 103(5), 3961-3970.
- Rampini, S., Völlmin, J. A., Bosshard, H. R., Müller, M., and Curtius, H. C. (1974). Aromatic acids in urine of healthy infants, persistent hyperphenylalaninemia, and phenylketonuria, before and after phenylalanine load. *Pediatric Research*, 8(7), 704-709.
- Reaven, G. M., Ho, H. and Hoffmann, B. B. (1989). Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension*, 14(2), 117-120.
- Rivero-Gutiérrez, B., Gámez-Belmonte, R., Suárez, M. D., Lavín, J. L., Aransay, A. M., Olivares, M., Martínez-Augustin, O., Sanchez de Medina, F. and Zarzuelo, A. (2017). A synbiotic composed of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and FOS prevents the development of fatty acid liver and glycemic alterations in rats fed a high fructose diet associated with changes in the microbiota. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(8), 1600622.
- Rosa, D. D., Dias, M. M., Grześkowiak, Łukasz M., Reis, S. A., Conceição, L. L. and Maria do Carmo, G. P. (2017). Milk kefir: Nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82-96.
- Rosa, D. D., Grześkowiak, Ł. M., Ferreira, C. L. L. F., Fonseca, A. C. M., Reis, S. A., Dias, M. M., Siqueira, N. P., Silva, L. L., Neves, C. A., Oliveira, L. L., Machado, A. B. F. and Peluzio, M. do C. G. (2016). Kefir reduces insulin resistance and inflammatory cytokine expression in an animal model of metabolic syndrome. *Food & Function*, 7(8), 3390-3401.
- Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektaş, M. B., Yildirim, O. G., Menevse, A. and Akar, F. (2015). High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: Improving effect of resveratrol. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 895-904.
- Saklayen, M. G. (2018). The global epidemic of the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2), 1-8.
- Schwarz, J. M., Neese, R. A., Turner, S. M., Nguyen, C. and Hellerstein, M. K. (1994). Effect Of Fructose Ingestion On Glucose-Production (GP) And De-Novo Lipogenesis (DNL) In Normal And Hyperinsulinemic Obese Humans. *Diabetes*, 43, A52-A52.

- Schwarz, J.-M., Noworolski, S. M., Wen, M. J., Dyachenko, A., Prior, J. L., Weinberg, M. E., Herraiz, L. A., Tai, V. W., Bergeron, N. and Bersot, T. P. (2015). Effect of a high-fructose weight-maintaining diet on lipogenesis and liver fat. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(6), 2434-2442.
- Seksik, P., Rigottier-Gois, L., Gramet, G., Sutren, M., Pochart, P., Marteau, P., Jian, R. and Dore, J. (2003). Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut*, 52(2), 237-242.
- Shelton, C. D. and Byndloss, M. X. (2020). Gut epithelial metabolism as a key driver of intestinal dysbiosis associated with noncommunicable diseases. *Infection and Immunity*, 88(7), 00939-19.
- Silva, J. C., Mota, M., Martins, F. O., Nogueira, C., Gonçalves, T., Carneiro, T., Pinto, J., Duarte, D., Barros, A. S. and Jones, J. G. (2018). Intestinal microbial and metabolic profiling of mice fed with high-glucose and high-fructose diets. *Journal of Proteome Research*, 17(8), 2880-2891.
- Singh, G. M., Micha, R., Khatibzadeh, S., Shi, P., Lim, S., Andrews, K. G., Engell, R. E., Ezzati, M., Mozaffarian, D., Nutrition, G. B. of D. and Group (NutriCoDE), C. D. E. (2015). Global, regional, and national consumption of sugar-sweetened beverages, fruit juices, and milk: A systematic assessment of beverage intake in 187 countries. *PloS One*, 10(8), 0124845.
- Softic, S., Cohen, D. E. and Kahn, C. R. (2016). Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(5), 1282-1293.
- Solga, S. F. and Diehl, A. M. (2003). Non-alcoholic fatty liver disease: Lumen–liver interactions and possible role for probiotics. *Journal of Hepatology*, 38(5), 681-687.
- Stančáková, A. and Laakso, M. (2014). Genetics of metabolic syndrome. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 15(4), 243-252.
- Stanhope, K. L. (2016). Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 53(1), 52-67.
- Stanhope, K. L., Schwarz, J. M., Keim, N. L., Griffen, S. C., Bremer, A. A., Graham, J. L., Hatcher, B., Cox, C. L., Dyachenko, A. and Zhang, W. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(5), 1322-1334.
- Stenholm, S., Koster, A., Alley, D. E., Visser, M., Maggio, M., Harris, T. B., Egan, J. M., Bandinelli, S., Guralnik, J. M. and Ferrucci, L. (2010). Adipocytokines and the metabolic syndrome among older persons with and without obesity: The InCHIANTI study. *Clinical Endocrinology*, 73(1), 55-65.
- St-Onge, M.-P., Farnworth, E. R., Savard, T., Chabot, D., Mafu, A. and Jones, P. J. (2002). Kefir consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates relative to milk in hyperlipidemic men: A randomized controlled trial [ISRCTN10820810]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 1-7.
- Sumlu, E., Bostancı, A., Sadi, G., Alçıgır, M. E. and Akar, F. (2022). *Lactobacillus plantarum* improves lipogenesis and IRS-1/AKT/eNOS signalling pathway in the liver of high-fructose-fed rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128(3), 786-794.

- Şanlıer, N., Gökçen, B. B. and Sezgin, A. C. (2019). Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 506-527.
- Tannahill, G. M., Curtis, A. M., Adamik, J., Palsson-McDermott, E. M., McGettrick, A. F., Goel, G., Frezza, C., Bernard, N. J., Kelly, B. and Foley, N. H. (2013). Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature*, 496(7444), 238-242.
- Thursby, E. and Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823-1836.
- Tilg, H., Adolph, T. E., Gerner, R. R. and Moschen, A. R. (2018). The intestinal microbiota in colorectal cancer. *Cancer Cell*, 33(6), 954-964.
- Tiss, M., Souiy, Z., ben Abdeljelil, N., Njima, M., Achour, L. and Hamden, K. (2020). Fermented soy milk prepared using kefir grains prevents and ameliorates obesity, type 2 diabetes, hyperlipidemia and liver-kidney toxicities in HFFD-rats. *Journal of Functional Foods*, 67, 103869.
- Tolhurst, G., Heffron, H., Lam, Y. S., Parker, H. E., Habib, A. M., Diakogiannaki, E., Cameron, J., Grosse, J., Reimann, F. and Gribble, F. M. (2012). Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*, 61(2), 364-371.
- Trošt, K., Ahonen, L., Suvitaival, T., Christiansen, N., Nielsen, T., Thiele, M., Jacobsen, S., Krag, A., Rossing, P. and Hansen, T. (2020). Describing the fecal metabolome in cryogenically collected samples from healthy participants. *Scientific reports*, 10(1), 1-8.
- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., Sogin, M. L., Jones, W. J., Roe, B. A. and Affourtit, J. P. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228), 480-484.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R. and Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027-1031.
- Underwood, A. H. and Newsholme, E. (1965). Properties of phosphofructokinase from rat liver and their relation to the control of glycolysis and gluconeogenesis. *Biochemical Journal*, 95(3), 868.
- Vallianou, N., Stratigou, T., Christodoulatos, G. S. and Dalamaga, M. (2019). Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: Current evidence and perspectives. *Current Obesity Reports*, 8(3), 317-332.
- Verma, S., Bhanot, S. and McNeill, J. H. (1994). Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 271(3), 1334-1337.
- Viazzi, F., Garneri, D., Leoncini, G., Gonnella, A., Muiesan, M. L., Ambrosioni, E., Costa, F. V., Leonetti, G., Pessina, A. C. and Trimarco, B. (2014). Serum uric acid and its relationship with metabolic syndrome and cardiovascular risk profile in patients with hypertension: Insights from the I-DEMAND study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 24(8), 921-927.
- Volynets, V., Louis, S., Pretz, D., Lang, L., Ostaff, M. J., Wehkamp, J. and Bischoff, S. C. (2017). Intestinal barrier function and the gut microbiome are differentially affected in mice fed a western-style diet or drinking water supplemented with fructose. *The Journal of Nutrition*, 147(5), 770-780.

- Waldram, A., Holmes, E., Wang, Y., Rantalainen, M., Wilson, I. D., Tuohy, K. M., McCartney, A. L., Gibson, G. R. and Nicholson, J. K. (2009). Top-down systems biology modeling of host metabotype- microbiome associations in obese rodents. *Journal of Proteome Research*, 8(5), 2361-2375.
- Wang, S. P., Rubio, L. A., Duncan, S. H., Donachie, G. E., Holtrop, G., Lo, G., Farquharson, F. M., Wagner, J., Parkhill, J. and Louis, P. (2020). Pivotal roles for pH, lactate, and lactate-utilizing bacteria in the stability of a human colonic microbial ecosystem. *Msystems*, 5(5), e00645-20.
- Wei, X., Song, M., Yin, X., Schuschke, D. A., Koo, I., McClain, C. J. and Zhang, X. (2015). Effects of dietary different doses of copper and high fructose feeding on rat fecal metabolome. *Journal of Proteome Research*, 14(9), 4050-4058.
- White, J. S. and Nicklas, T. A. (2016). High-fructose corn syrup use in beverages: Composition, manufacturing, properties, consumption, and health effects. In *Beverage Impacts on Health and Nutrition*. Cham: Humana Press, 285-301.
- Xu, W., Chen, D., Wang, N., Zhang, T., Zhou, R., Huan, T., Lu, Y., Su, X., Xie, Q., Li, L., and Li, L. (2015). Development of high-performance chemical isotope labeling LC–MS for profiling the human fecal metabolome. *Analytical Chemistry*, 87(2), 829-836.
- Yildirim, O. G., Sadi, G. and Akar, F. (2020). Lactobacillus plantarum and Lactobacillus helveticus modulate SIRT1, Caspase3 and Bcl-2 in the testes of high-fructose-fed rats. *Journal of the Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 50(3), 168-176.
- Zeki, Ö. C., Eylem, C. C., Reçber, T., Kır, S. and Nemutlu, E. (2020). Integration of GC–MS and LC–MS for untargeted metabolomics profiling. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 190, 113509.
- Zhang, D.-M., Jiao, R.-Q. and Kong, L.-D. (2017). High dietary fructose: Direct or indirect dangerous factors disturbing tissue and organ functions. *Nutrients*, 9(4), 335.
- Zhang, Z., Lv, J., Pan, L. and Zhang, Y. (2018). Roles and applications of probiotic Lactobacillus strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(19), 8135-8143.
- Zhao, L. (2013). The gut microbiota and obesity: From correlation to causality. *Nature Reviews Microbiology*, 11(9), 639-647.
- Zhao, S., Jang, C., Liu, J., Uehara, K., Gilbert, M., Izzo, L., Zeng, X., Trefely, S., Fernandez, S. and Carrer, A. (2020). Dietary fructose feeds hepatic lipogenesis via microbiota-derived acetate. *Nature*, 579(7800), 586-591.
- Zhuang, L., Chen, H., Zhang, S., Zhuang, J., Li, Q. and Feng, Z. (2019). Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 17(1), 13-25.
- Zierer, J., Jackson, M. A., Kastenmüller, G., Mangino, M., Long, T., Telenti, A., Mohnsey, R. P., Small, K. S., Bell, J. T. and Steves, C. J. (2018). The fecal metabolome as a functional readout of the gut microbiome. *Nature Genetics*, 50(6), 790-795.
- Zoetendal, E. G., Rajilić-Stojanović, M. and de Vos, W. M. (2008). High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut*, 57(11), 1605-1615.
- Zubiría, M. G., Gambaro, S. E., Rey, M. A., Carasi, P., Serradell, M. de los Á. and Giovambattista, A. (2017). Deleterious metabolic effects of high fructose intake: The preventive effect of Lactobacillus kefir administration. *Nutrients*, 9(5), 470.





EK-1. Etik Kurul izin belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.02.2022-E.299025		
T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı		
Sayı : E-66332047-604.01.02-299025	24.02.2022	
Konu : Değerlendirme ve Onay		
Sayın Prof. Dr. Fatma AKAR Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi		
Araştırmacı grubu Fatma AKAR, Ceren GÜNEY ve Tuğba DOLU'dan oluşan, G.Ü.ET-22.028 kod numaralı ve "<i>Yüksek Fruktoz Diyeti ile Beslenen Sıçanların Feçes Örneklerinde Organik Asit Düzeyleri ve Kefir Etkisinin İncelenmesi</i>" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.		
Bilgilerinizi rica ederim.		
It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.028 and entitled "<i>Investigation of Organic Acid Levels in Fecal Samples of Rats Fed With High Fructose Diet: Effect of Kefir</i>" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.		
With my best regards.		
Not: Daha önce onay alan G.Ü.ET-18.018 kod numaralı çalışmada kullanılan 25 adet Wistar Albino Rat'ın, feçes örnekleri kullanılacaktır.		
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ Kurul Başkanı		
Ek:1 Liste		

Ek-1: (devam) Etik Kurul izin belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 24.02.2022-E.199824

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 18/02/2022		TOPLANTI SAYISI : 02	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. Agilent 6465B LC-MS/MS Cihazı Validasyon Parametreleri (ölçülen organik asitler için)

NO	ORGANİK ASİTLER	LOQ (ppm)	Doğrusallık R ²	Geri Kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik RSD (%)
1	2-OH-3-metil pentanoik asit	0,08	0,9986	104,2	6,98
2	2-OH-glutarik asit	0,37	0,9992	106,6	1,97
3	2-OH-izokaproik asit	0,07	0,9992	108,4	5,66
4	2-OH-izovalerik asit	0,07	0,9976	90,7	2,59
5	2-OH-fenilasetik asit	0,07	0,9994	105,8	1,59
6	3-metilglutakonik asit	0,05	0,9987	104,2	2,8
7	3-OH-2-metilbütanoik asit	0,09	0,9856	99,4	13,27
8	3-OH-glutarik asit	0,05	0,9996	115	2,7
9	3-OH-izovalerik asit	0,11	0,9983	101,8	3,24
10	3-OH-pentanoik asit	0,16	0,9996	94,14	6,95
11	3-OH-propanoik asit	1,49	0,9983	88,4	4,55
12	3-fenillaktik asit	0,06	0,999	115,9	6,34
13	4-OH-fenillaktik asit	0,08	0,9968	77,3	10,34
14	Adipik asit	0,08	0,9993	100,2	6,01
15	Sitrik asit	0,39	0,9957	101,5	8,85
16	Etilmalonik asit	0,05	0,9984	86,4	1,98
17	Fumarik asit	0,06	0,999	75,9	10,75
18	Glutakonik asit	0,2	0,9992	101,8	11,58
19	Glutarik asit	0,23	0,9999	93,6	2,45
20	Glikolik asit	0,72	0,9977	101,6	11,9
21	Homogentisik asit	0,04	0,9993	78,7	3,19
22	Laktik asit	3,54	0,9997	106,4	10,8
23	Malik asit	0,06	0,9952	115	4,04
24	Metilmalonik asit	0,34	0,9998	87,6	3,27
25	N-asetilaspartik asit	0,1	0,9994	119	5,89
26	N-asetiltirozin	0,13	0,9995	86,3	6,03
27	Oksoprolin	0,05	0,9984	79,5	3,72
28	Pirüvik asit	0,22	0,9965	119	17,09
29	Sebasik asit	0,07	0,9998	94,5	2,4
30	Suberik asit	0,08	0,9993	94,9	1,99
31	Süksinik asit	0,1	0,9996	92,9	3,25

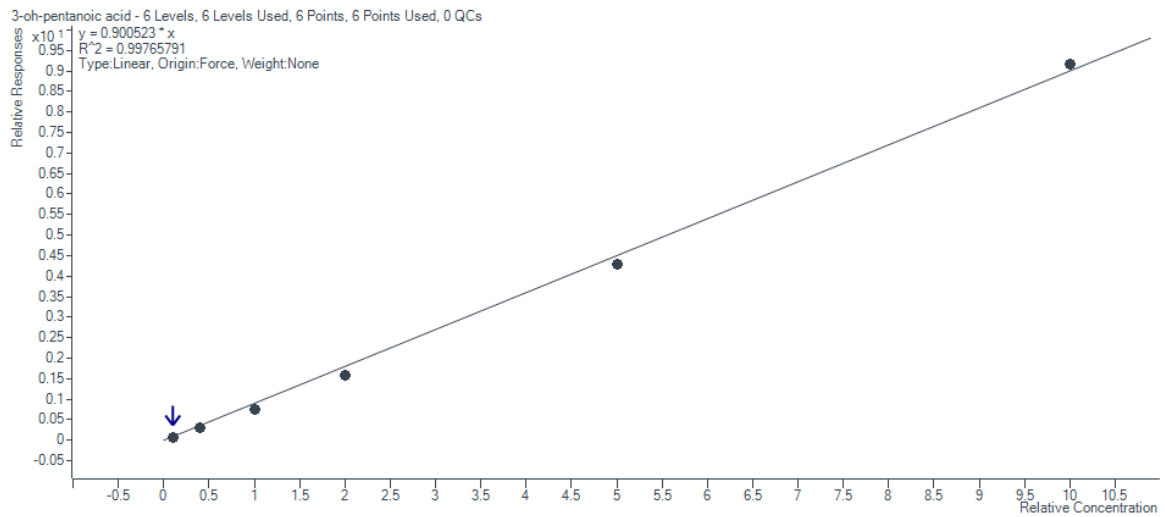
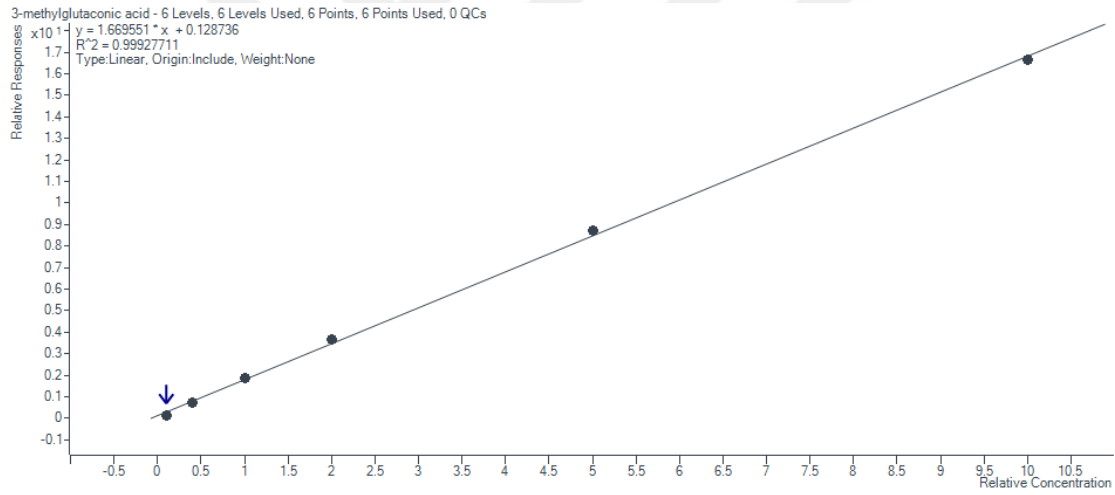
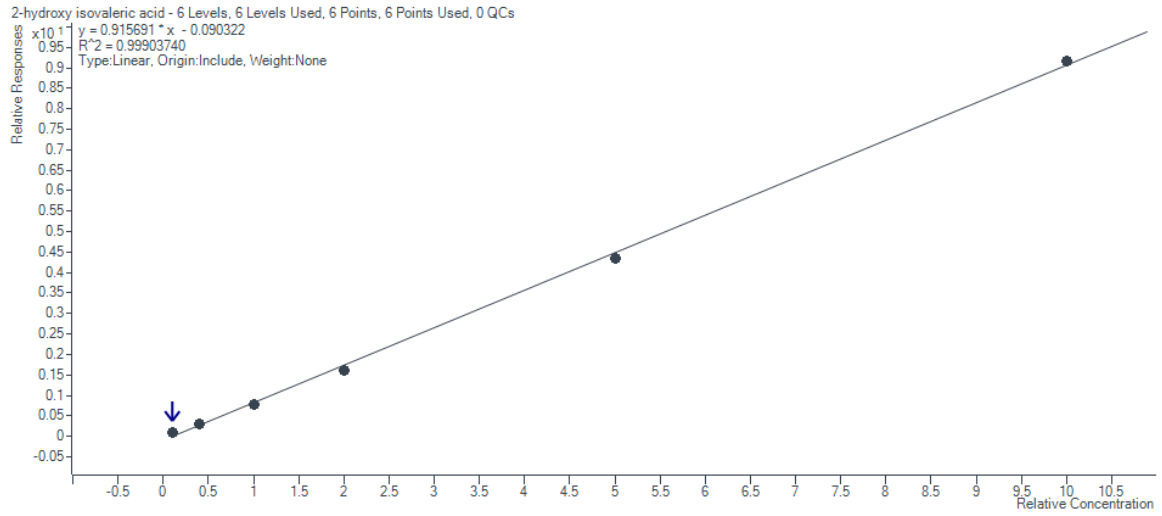
LOQ: Limit of Quantitation (Tespit limiti); RSD: Relative Standard Deviation (Göreceli Standart Sapma)

EK-3. Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri

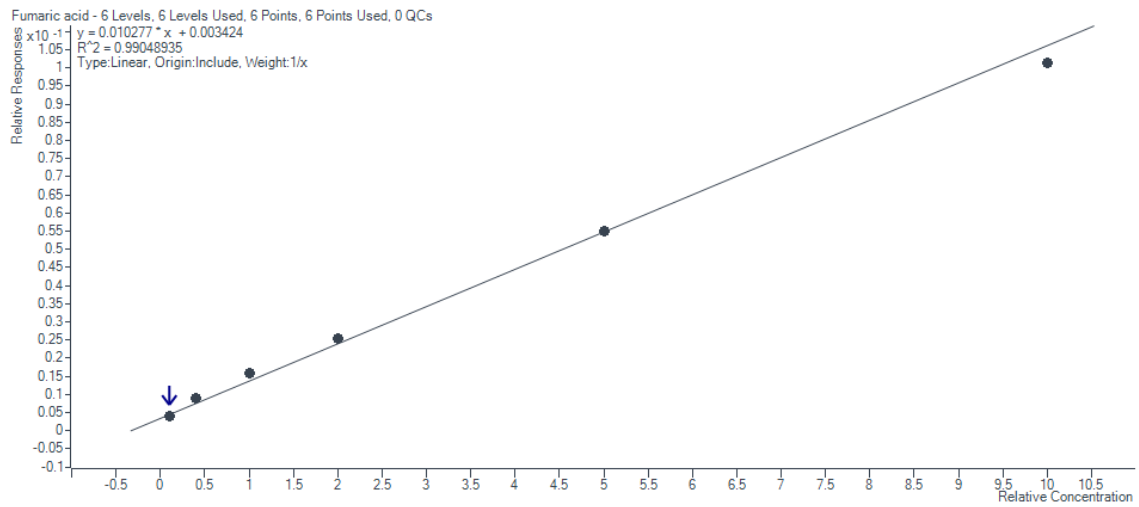
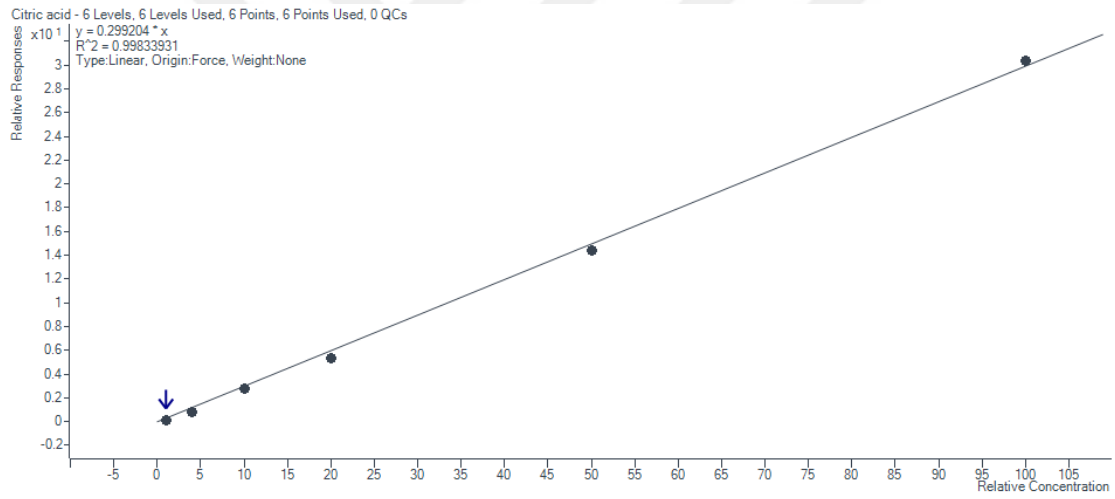
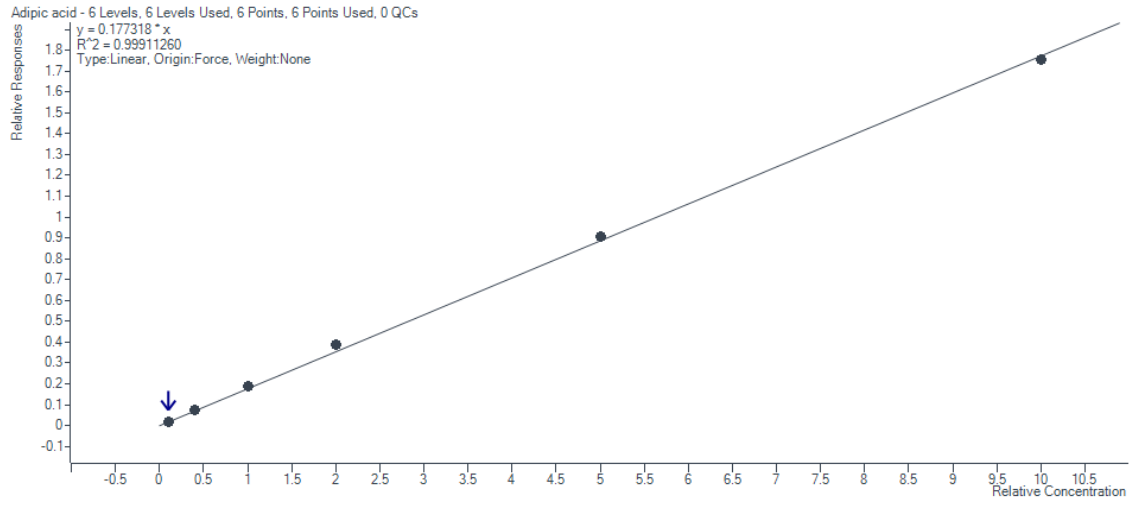
Panel-1 Bileşik Adı	mg/L (ppm)					
	Level-1	Level-2	Level-3	Level-4	Level-5	Level-6
2-OH-fenilasetik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-metilglutakonik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-OH-2-metilbütanoik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-OH-3-metilglutarik asit	1	4	10	20	50	100
3-fenillaktik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Fumarik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Glikolik asit	1	4	10	20	50	100
Homogentisik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Malik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
N-asetilaspartik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
N-asetiltirozin	0,1	0,4	1	2	5	10
Oksoprolin	0,1	0,4	1	2	5	10
4-OH-fenillaktik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Sebasik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Suberik asit	0,1	0,4	1	2	5	10

Panel-2 Bileşik Adı	mg/L (ppm)					
	Level-1	Level-2	Level-3	Level-4	Level-5	Level-6
2-OH-glutarik asit	1	4	10	20	50	100
2-OH-3-metilpentanoik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
2-OH-izokaproik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
2-OH-izovalerik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-OH-glutarik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-OH-propanoik asit	1	4	10	20	50	100
3-OH-izovalerik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
3-OH-pentanoik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Adipik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Sitrik asit	1	4	10	20	50	100
Etilmalonik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Glutakonik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Glutarik asit	1	4	10	20	50	100
Laktik asit	1	4	10	20	50	100
Metilmalonik asit	1	4	10	20	50	100
Pirüvik asit	0,1	0,4	1	2	5	10
Süksinik asit	0,1	0,4	1	2	5	10

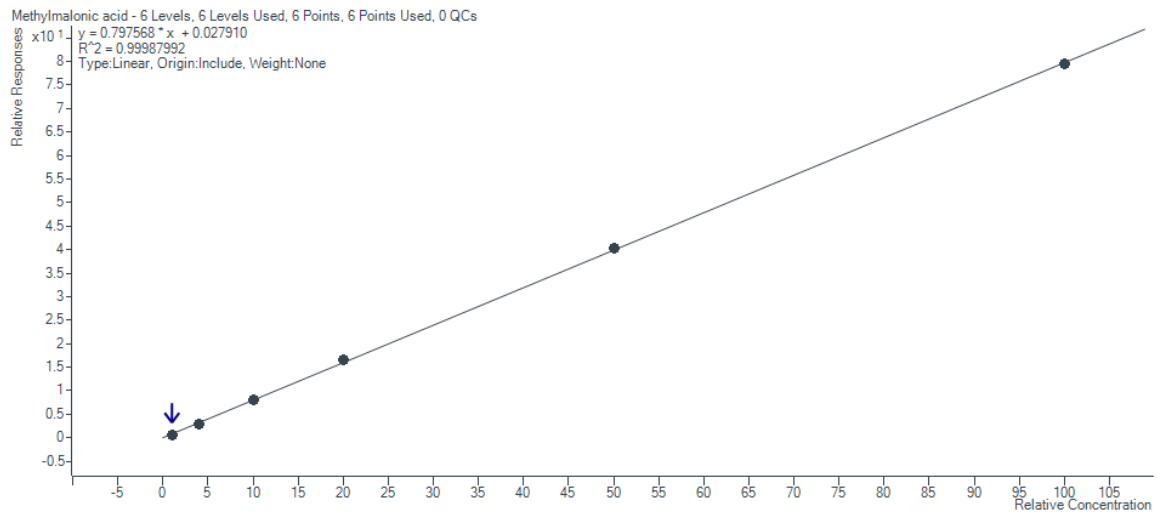
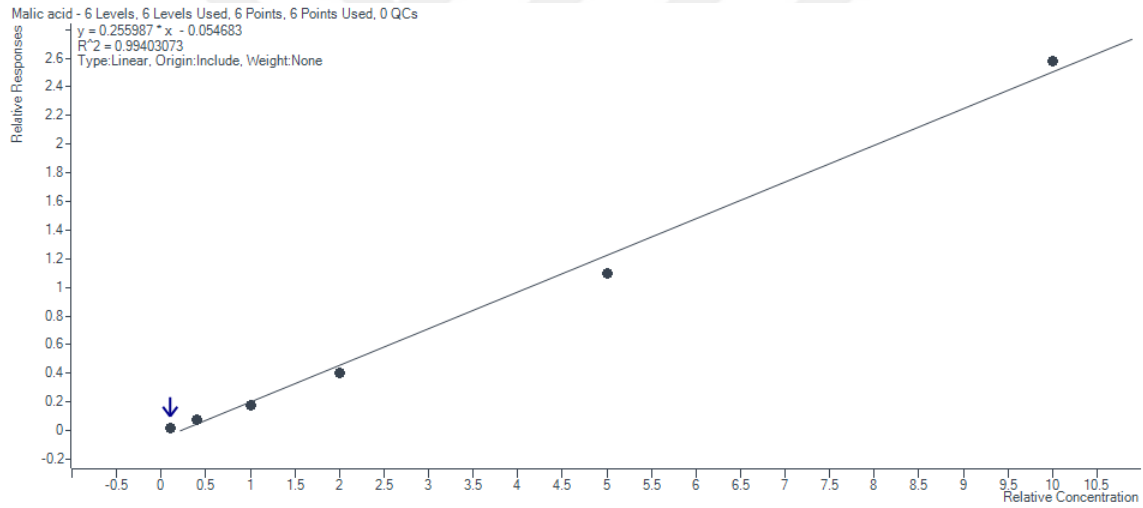
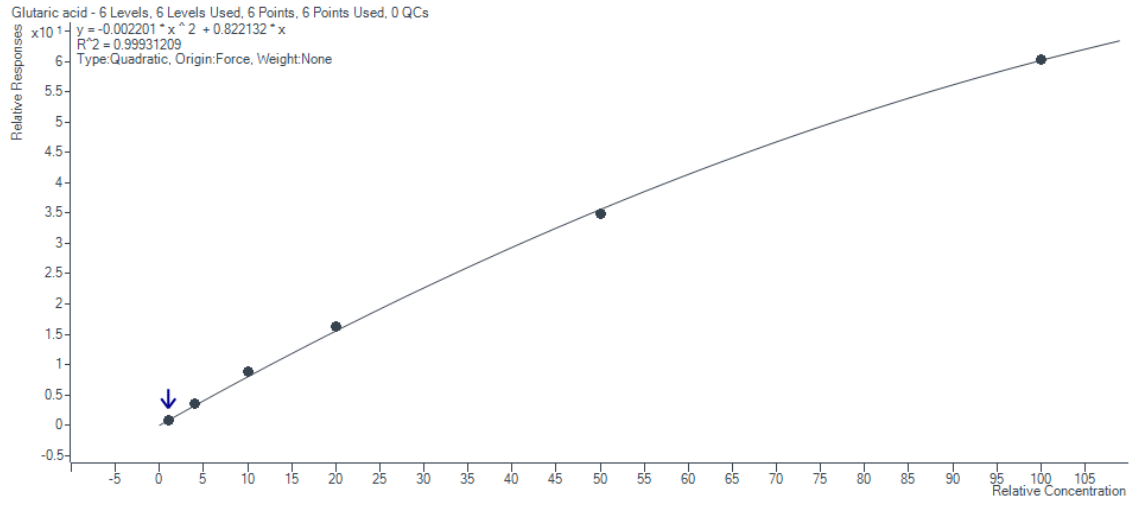
EK-3. (devamı) Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri



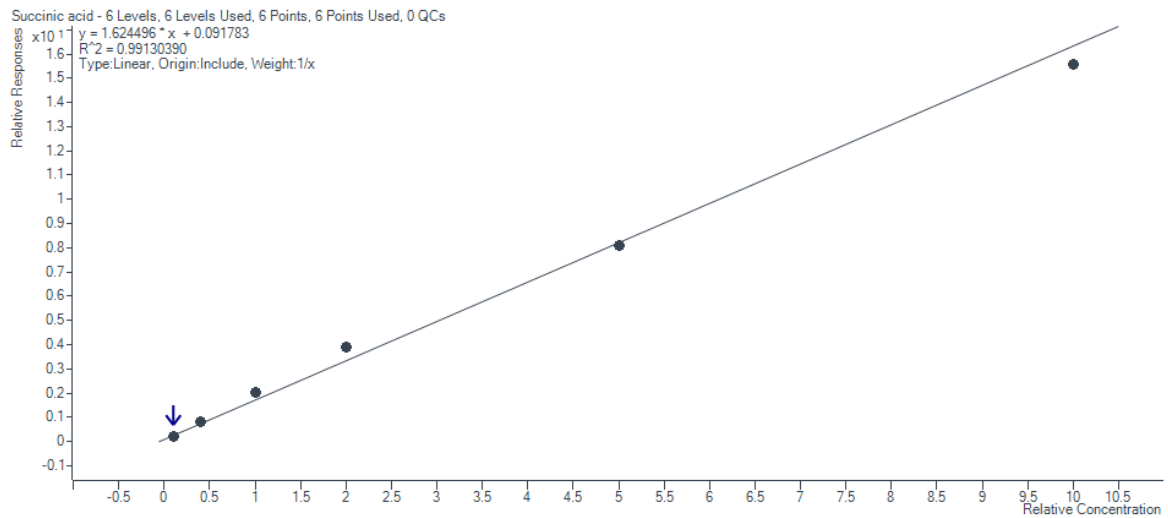
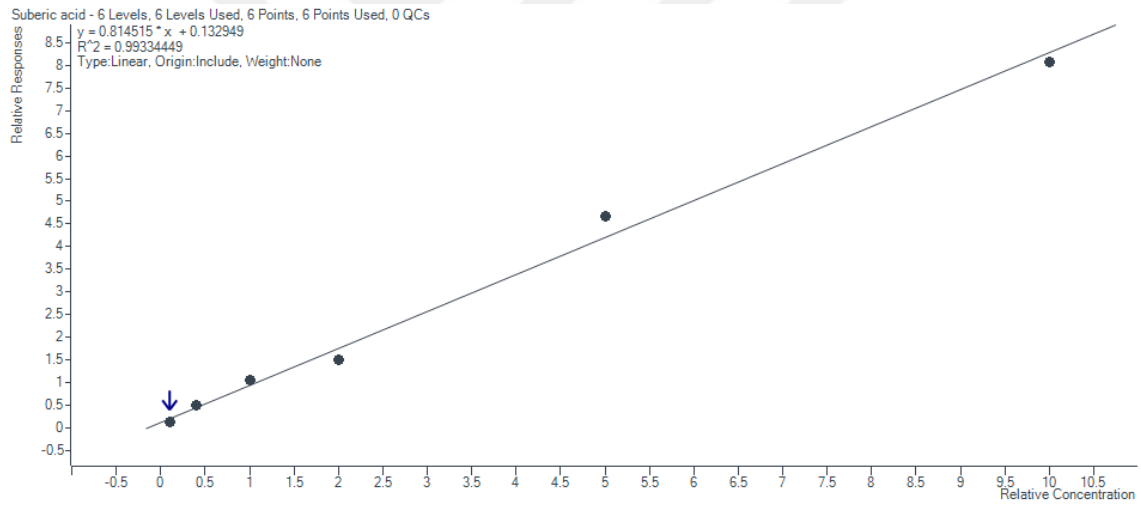
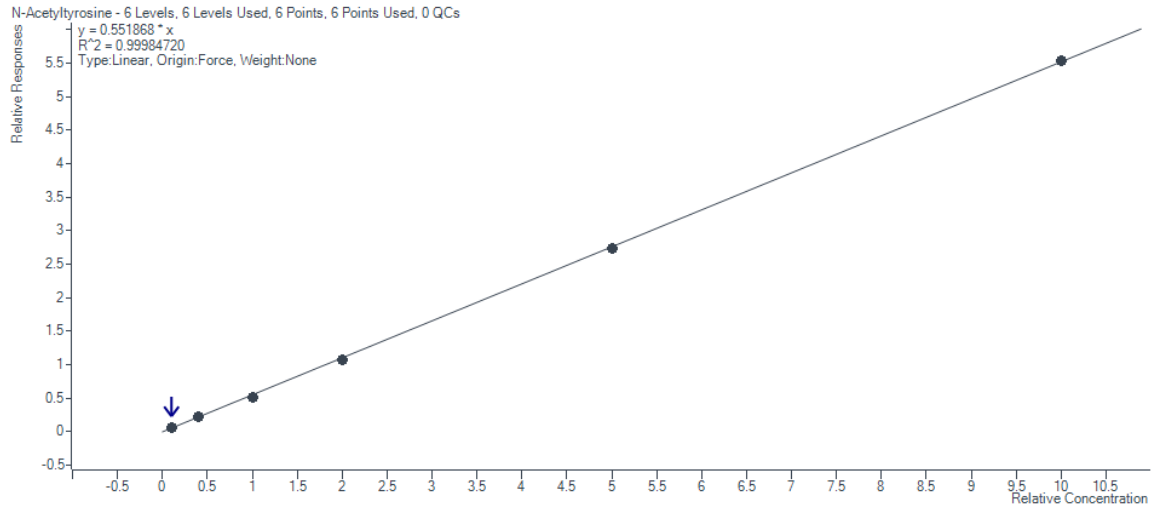
EK-3. (devamı) Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri



EK-3. (devamı) Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri



EK-3. (devamı) Kalibrasyon aşamasında altı noktalı kalibrasyon için dedektörde ölçümü yapılan analit konsantrasyonları ve bazı organik asitler için kalibrasyon grafikleri



EK-4. Ölçüm sonuçları

Sonuçlar (µg/ml)																
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	F1	F2	F3	F4	F5	FK1	FK2	FK3	FK4	FK5
3-OH-2-metilbütanoik asit	0,072	0,042	0,084	0,036	0,032	0,053	0,003	0,014	0,023	0,051	0,045	0,027	0,028	0,038	0,026	0,034
2-OH-fenilasetik asit	0,018	0,030	0,036	0,022	0,011	0,035	0,003	0,005	0,006	0,023	0,017	0,025	0,015	0,027	0,013	0,019
3-metilglutakonik asit	0,051	0,068	0,062	0,026	0,032	0,052	0,007	0,012	0,013	0,048	0,061	0,044	0,040	0,048	0,025	0,031
3-fenillaktik asit	0,426	0,172	0,066	0,275	0,232	0,024	0,039	0,016	0,042	0,065	0,023	0,062	0,030	0,053	0,060	0,042
Fumarik asit	17,111	15,559	16,667	16,163	14,614	12,188	1,947	12,134	7,859	13,309	11,226	21,296	11,806	12,634	7,783	15,485
Glikolik asit	1,536	1,504	2,733	9,876	2,528	7,209	0,939	0,412	3,277	5,893	0,751	1,378	0,994	3,937	1,982	4,813
Homogentisik asit	0,024	0,024	0,027	0,014	0,010	0,019	0,003	0,003	0,003	0,007	0,016	0,013	0,009	0,012	0,009	0,010
Malik asit	5,582	8,774	8,126	3,764	7,274	5,958	1,215	6,937	5,253	8,164	6,036	18,696	7,285	8,339	4,805	10,048
N-asetilaspartik asit	0,001	0,002	0,008	0,001	0,001	0,003	0,001	0,002	0,002	0,007	0,017	0,012	0,006	0,008	0,001	0,005
N-asetiltirozin	0,006	0,030	0,016	0,012	0,003	0,049	0,007	0,010	0,019	0,007	0,011	0,047	0,011	0,008	0,007	0,011
Oksoprolin	5,678	0,535	1,277	2,822	2,818	0,618	0,389	0,150	0,613	1,612	1,679	0,385	1,346	4,904	3,513	1,145
4-OH-fenillaktik asit	0,041	0,069	0,013	0,060	0,034	0,008	0,009	0,012	0,018	0,009	0,009	0,027	0,011	0,004	0,006	0,013
Sebasik asit	0,580	0,616	0,685	0,302	0,387	0,729	0,179	0,234	0,215	0,582	1,102	0,816	0,602	0,913	0,634	0,622
Suberik asit	1,196	1,391	1,843	0,735	0,892	1,212	0,196	0,432	0,832	1,549	2,098	1,169	1,400	1,782	1,448	3,721
2-OH-izovalerik asit	1,830	0,217	0,206	0,745	0,458	0,117	0,130	0,109	0,143	0,218	0,119	0,148	0,112	0,496	0,181	0,132
2-OH-3-metilpentanoik asit	1,527	0,338	0,322	0,572	0,469	0,235	0,244	0,234	0,297	0,266	0,233	0,296	0,230	0,567	0,264	0,235
2-OH-glutarik asit	10,258	10,363	4,783	2,410	3,945	2,911	0,327	0,730	0,671	1,623	2,132	10,144	4,157	1,785	1,717	2,084
2-OH-izokaproik asit	1,656	0,449	0,250	1,070	0,433	0,211	0,262	0,201	0,221	0,331	0,220	0,273	0,208	0,339	0,269	0,213
3-OH-izovalerik asit	0,108	0,075	0,156	0,100	0,089	0,135	0,014	0,042	0,042	0,111	0,128	0,111	0,079	0,121	0,070	0,094
3-OH-propanoik asit	0,196	1,914	0,295	0,091	0,129	1,022	0,044	0,221	0,122	0,172	0,334	3,444	0,380	0,070	0,111	0,230
3-OH-glutarik asit	0,152	0,559	0,364	0,174	0,076	0,384	0,038	0,136	0,148	0,277	0,216	1,148	0,319	0,111	0,105	0,341
3-OH-pentanoik asit	0,033	0,011	0,012	0,006	0,026	0,008	0,008	0,008	0,016	0,046	0,012	0,231	0,015	0,011	0,011	0,021
Adipik asit	0,117	0,326	0,226	0,097	0,119	0,107	0,015	0,038	0,003	0,131	0,277	0,175	0,143	0,171	0,064	0,107
Sitrik asit	15,901	13,437	17,646	10,581	14,039	10,979	1,284	9,282	9,150	5,552	6,972	11,698	12,802	18,403	1,860	10,743
Etilmalonik asit	0,064	0,042	0,062	0,034	0,027	0,022	0,012	0,007	0,012	0,039	0,052	0,083	0,056	0,080	0,019	0,056
Glutakonik asit	0,102	0,041	0,063	0,055	0,016	0,176	0,028	0,008	0,007	0,018	0,015	0,083	0,065	0,080	0,029	0,064
Glutarik asit	3,697	3,818	3,825	1,434	1,981	1,729	0,302	0,865	1,203	2,616	3,130	2,500	2,911	2,843	1,424	2,008
Laktik asit	1,282	4,935	2,339	5,346	1,464	1,440	2,493	16,274	10,458	10,122	2,419	1,526	0,958	2,407	5,001	5,041
Metilmalonik asit	0,066	0,020	0,055	0,064	0,087	0,024	0,012	0,006	0,025	0,043	0,042	0,021	0,024	0,045	0,011	0,035
Pirüvik asit	0,295	0,357	0,530	0,214	0,259	0,867	0,151	0,456	0,139	0,402	0,623	0,472	0,495	0,454	0,604	0,546
Süksinik asit	13,438	8,584	4,207	9,462	8,736	3,250	5,063	1,653	9,608	7,743	5,283	6,874	3,325	3,509	6,701	3,257

K: Kontrol; F: Fruktöz; FK: Fruktöz+Kefir.

Seyreltme faktörü:100 olarak dikkate alınmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı DOLU, Tuğba

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/ Farmakoloji (Ecz) Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2018
Lise	Anamur Anadolu Lisesi	2013
İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2019-devam ediyor	Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Yurt Dışı İlaç Tedarik Yönetimi Birimi	Eczacı
2018-2019	İde İlaç Ruhsatlandırma Ltd.	Eczacı

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Dolu, T. ve Akar, F. (2022, 10-12 June). *The effects of high-fructose diet and kefir supplementation on the levels of organic acids in the feces of rats*. 9. International Gevher Nesibe Health Sciences Conference, Kayseri, 111-112.



GAZİ OLMAK AYRICALIKTIR..

