

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



HARDALIYE TÜKETİMİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTA
MODÜLASYONUNA ETKİNLİĞİ

DOKTORA TEZİ

Silva POLAT SARI

Gıda Güvenliği ve Beslenme Bilimleri Anabilim Dalı
Gıda Güvenliği Bilim Dalı

EKİM, 2021

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



HARDALIYE TÜKETİMİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTA
MODÜLASYONUNA ETKİNLİĞİ

DOKTORA TEZİ

Silva POLAT SARI

(Y1415.710011)

Gıda Güvenliği ve Beslenme Bilimleri Anabilim Dalı
Gıda Güvenliği Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Reyhan ÇALIŞKAN

EKİM, 2021

ONAY SAYFASI



ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Hardaliye Tüketiminin Bağırsak Mikrobiyota Modülasyonuna Etkinliği” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Kaynakça’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (04/10/2021)

Silva POLAT SARI



ÖNSÖZ

Doktora tez çalışmam boyunca bilgi ve görüşleri ile yoluma ışık tutan, manevi desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Reyhan ÇALIŞKAN'a,

Bilimsel düşünceleri, yönlendirmeleri ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. Zeynep Çiğdem KAYACAN, Prof. Dr. Yaşar Ali ÖNER ve Dr. Öğr. Üyesi Özer AKGÜL'e,

Doktora yaptığım sürece çalışmalarına yol gösteren ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU ve Doç. Dr. Pelin YÜKSEL MAYDA'ya,

Tez çalışmamın ilerlemesinde değerli katkıları olan Beslenme ve Diyetetik Uzmanı Hatice KOÇAK ve Dr. Öğr. Üyesi Akif Nuri DOĞAN'a,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını ve güler yüzlerini esirgemeyen İstanbul Aydın Üniversitesi çalışma arkadaşlarım Laboratuvar Teknisyeni Ersin KILIÇ ve Melike ÖZDEMİR'e,

Hayatım boyunca desteklerini hissettiğim, beni hayata hazırlayan, en kıymetlilerim canım annem Şinorik POLAT'a, yokluğunu her an hissettiğim, özlemi hiç dinmeyen rahmetli canım babam Jirayr POLAT'a, ve tecrübeleriyle beni her konuda destekleyen ve cesaretlendiren ablam Seta POLAT'a,

Hayatımızın en heyecanlı, en mutlu, en sıkıntılı anlarını birlikte göğüslediğimiz eşim Panayot SARI ve kalbimdeki sevginin en büyük payına sahip canım oğlum Daniel Nikola SARI'ya destekleri, sabırları ve anlayışları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2019/11 sayılı kararla desteklenmiştir.

Bu tez, babam Jirayr POLAT'a ithaf edilmiştir.

Ekim, 2021

Silva POLAT SARI



HARDALIYE TÜKETİMİNİN BAĞIRSAK MİKROBİYOTA MODÜLASYONUNA ETKİNLİĞİ

ÖZET

POLAT SARI, S. (2021). Hardaliye Tüketiminin Bağırsak Mikrobiyota Modülasyonuna Etkinliği. İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Güvenliği Bölümü Doktora Tezi. İstanbul 2021.

Amaç: Çalışmamızda zengin fenolik bileşik içeren üzümlerden elde edilen, alkolsüz ve fermente bir içecek olan hardaliyenin sağlıklı bireylerin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Sağlıklı gönüllülerle yürütülen çalışmamızda, çalışma grubunda 15, kontrol grubunda 15 kişi olmak üzere toplam 30 birey yer almıştır. Çalışma süresince sağlıklı beslenme programı uygulanarak çalışma ve kontrol grubunda yer alan bireylerden diyet öncesi, diyetin 15. günü ve 30. günü gaita örnekleri toplanmıştır. Çalışma grubunda yer alan gönüllüler 20 gün daha diyetle devam ederek haftanın 3 günü 250ml/gün hardaliye tüketmiş, bu süre sonunda 4. gaita örnekleri alınmıştır. Toplanan gaita örneklerinden Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile 16S rRNA V3-V4 gen bölgesi çoğaltılmış ve Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi yapılarak %95 ve üzeri benzerlik oranına göre örnekler gruplandırılmıştır. Mikrobiyota analizinde 16S rRNA hedefli Yeni Nesil Dizileme yöntemi kullanılarak filum, aile ve cins seviyesinde örneklerin bakteriyel mikrobiyota içeriği belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışma ve kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin örnekleri incelendiğinde en baskın filumların *Firmicutes* (sırasıyla %75,7 ve 76,8) ve *Bacteroidetes* (sırasıyla %14,3 ve %13,1) iken, en baskın ailelerin *Ruminococcaceae* (sırasıyla %40,3 ve %40,4) ve *Lachnospiraceae* (sırasıyla %28,3 ve %25,5), en baskın cinslerin ise *Faecalibacterium* (sırasıyla %13,2 ve %12,5) ve *Bacteroides* (sırasıyla %6,1 ve %7,1) olduğu saptanmıştır. Çalışma grubunda hardaliye tüketimi sonrasında en baskın filumlar *Firmicutes* (%78,7) ve *Bacteroidetes* (%13,7) iken, en baskın ailelerin *Ruminococcaceae* (%40,3) ve *Lachnospiraceae* (%28,3), en baskın cinslerin

Faecalibacterium (%12,7) ve *Bacteroides* (%5,6) olduğu gözlenmiştir. Çalışma grubunda hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında örnekler mikrobiyal bolluk açısından incelendiğinde filum, aile ve cins seviyesinde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Sonuçlar: Hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkinliğini ilk kez araştıran çalışmamızda mikrobiyota bileşiminin literatür verileriyle uyumlu olduğu ve hardaliye tüketiminin sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının idamesine katkı sağladığı gözlenmiştir. Ayrıca disbiyotik hasta gruplarıyla kapsamlı çalışmaların yapılmasının, hardaliyenin bağırsak mikrobiyotası modülasyonuna etkisinin anlaşılmasına fayda sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Hardaliye, fenolik bileşik, bağırsak mikrobiyotası

EFFECTIVENESS OF HARDALIYE CONSUMPTION ON INTESTINAL MICROBIOTA MODULATION

ABSTRACT

POLAT SARI, S. (2021). Effectiveness of Hardaliye Consumption on Intestinal Microbiota Modulation. Istanbul Aydın University, Institute of Graduate Education Department of Food Safety. Doctorate Thesis. Istanbul 2021.

Objective: In our study, it was aimed to investigate the effect of hardaliye, a non-alcoholic and fermented beverage obtained from grapes containing rich phenolic compounds, on the intestinal microbiota of healthy individuals.

Methods: In our study conducted with healthy volunteers, a total of 30 individuals, 15 in the study group and 15 in the control group, were included. During the study, a healthy nutrition program was applied and stool samples were collected from the individuals in the study and control groups before the diet, on the 15th and 30th days of the diet. Volunteers in the study group continued their diet for 20 more days and consumed 250 ml/day hardaliye 3 days a week, and at the end of this period, stool samples were taken. The 16S rRNA V3-V4 gene region was amplified by Polymerase Chain Reaction from the collected stool samples, and the samples were grouped according to 95% and above similarity rate by performing High Resolution Melting Analysis. In microbiota analysis, the bacterial microbiota content of the samples was determined at the phylum, family and genus level by using 16S rRNA-targeted Next Generation Sequencing method.

Results: When the samples of healthy individuals in the study and control groups were examined, the most dominant phyla were *Firmicutes* (75.7% and 76.8%, respectively) and *Bacteroidetes* (14.3% and 13.1%, respectively), while the most dominant families were *Ruminococcaceae* (40.3% and 40.4%, respectively) and *Lachnospiraceae* (28.3% and 25.5%, respectively), while the most dominant genera are *Faecalibacterium* (13.2% and 12.5%, respectively) and *Bacteroides* (6.1% and 7.1%, respectively) has been found. *Firmicutes* (78.7%) and *Bacteroidetes* (13.7%) were the most dominant phyla after hardaliye consumption in the study group, while the most dominant families were *Ruminococcaceae* (40.3%) and *Lachnospiraceae*

(28.3%), the most dominant genera were *Faecalibacterium* (%12.7) and *Bacteroides* (5.6%). When the samples were examined in terms of microbial abundance before and after hardaliye consumption in the study group, no significant difference was found at the level of phylum, family and genus ($p>0.05$).

Conclusion: In our study, which investigated the effectiveness of hardaliye consumption on intestinal microbiota for the first time, it was observed that the microbiota composition was compatible with the literature data and that hardaliye consumption contributed to the maintenance of healthy intestinal microbiota. In addition, it was thought that conducting extensive studies with patient groups with dysbiosis would benefit from understanding the effect of hardaliye on modulation of intestinal microbiota.

Key words: hardaliye, phenolic compound, intestinal microbiota

İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ	i
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xvii
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	5
A. Hardaliye	5
1. Fenolik Bileşikler	6
a. Fenolik Bileşiklerin sınıflandırılması	6
i. Flavonoidler	8
ii. Nonflavonoidler	12
b. Fenolik Bileşiklerin Metabolizması.....	13
c. Fenolik bileşiklerin diyet kaynakları	14
i. Üzümde yer alan fenolik bileşikler	16
d. Fenolik bileşiklerin biyolojik aktiviteleri	17
i. Antioksidan aktivite	17
ii. Antikanserojenik aktivite	18
iii. Antiinflamatuvar aktivite	20
iv. Kardiyoprotektif aktivite	21
v. Antidiyabetik aktivite.....	21
vi. Nöroprotektif aktivite	22
vii. Antimikrobiyal aktivite	22
B. Bağırsak mikrobiyotası.....	24

1. Bağırsak Mikrobiyotasının Fonksiyonları	27
a. Kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi.....	27
b. İntestinal bariyer bütünlüğünü koruma.....	27
c. İmmün sistem yanıtının düzenlenmesi.....	28
d. Beyin fonksiyonlarının düzenlenmesi.....	29
2. Bağırsak Mikrobiyota Çeşitliliğini Etkileyen Faktörler	29
a. Doğum şekli ve yenidoğan beslenmesi.....	29
b. Yaş	30
c. Antibiyotik kullanımı.....	31
d. Farklı beslenme modellerinin bağırsak mikrobiyotasına etkinliği.....	32
e. Farklı diyet bileşenlerinin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi.....	33
i. Karbonhidratlar	33
ii. Proteinler	35
iii. Yağlar	35
iv. Probiyotikler	36
v. Polifenoller.....	37
C. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin bağırsak mikrobiyotasına etkinliği	38
1. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin mikrobiyota ile ilişkisine yönelik in vitro çalışmalar	38
2. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin mikrobiyota ile ilişkisine yönelik in vivo ve klinik çalışmalar.....	39
III. GEREÇ ve YÖNTEM.....	41
A. Çalışma Alanı	41
B. Çalışmanın Genel Planı	41
C. Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri.....	42
D. Gaita örneklerinin laboratuvara ulaştırılması ve saklanması.....	43
E. Laboratuvarda Yürütülen Moleküler Çalışmalar	44
1. Gaita örneklerinden DNA izolasyonu	44
2. DNA miktarının ölçümü ve kalite kontrolü.....	44
3. Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi (High Resolution Melting Analysis, HRMA)	44
4. 16S rRNA Amplikon Kütüphane Hazırlık ve Dizilenmesi	46
5. Biyoinformatik Analiz Basamakları.....	49

F. İstatistiksel Değerlendirme.....	50
IV. BULGULAR	51
A. Gönüllülerin demografik özellikleri.....	51
B. HRM Analizi Sonuçları.....	52
1. Çalışma grubu HRM analizi sonuçları	56
2. Kontrol grubu HRM analizi sonuçları.....	58
C. Mikrobiyota Analizi Sonuçları.....	60
1. Çalışma Grubunda Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	61
2. Çalışma Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	63
3. Çalışma Grubunda Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları	66
4. Kontrol Grubunda Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları	70
5. Kontrol Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluk Oranları	72
6. Kontrol Grubunda Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	75
V. TARTIŞMA	79
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
VII. KAYNAKLAR	91
EKLER.....	113
ÖZGEÇMİŞ.....	123



KISALTMALAR LİSTESİ

HMP	: Human Microbiome Project
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
NF-KB	: Nükleer Faktörü KAPPA B
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
TLR	: Toll Like Receptor
COX	: Cyclooxygenase
PPAR	□: Peroxisome Proliferator-activated receptor □
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
LPS	: Lipopolisakkarit
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor- α
IL-1β	: Interleukin-1 β
LDL	: Low Density Lipoprotein
EGCG	: (-)-epigallocateşin-3-gallate
MRSA	: Methicillin Resistant Staphylococcus aureus
HGP	: Human Genome Project
IBD	: Inflammatory Bowel Disease
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
SIgA	: Secretory Immunglobulin A
PRR	: Pattern Recognition Receptors
MAMP	: Microbe-associated molecular pattern

F/B	: Firmicutes/Bacteroidetes
HMO	: Human Milk Oligosaccharide
FOS	: Fruktooligosakkarit
GOS	: Galaktooligosakkarit
TMAO	: Trimetilamin-N-Oksit
VLDL	: Very Low Dansity Lipoprotein
hsCRP	: high-sensitivity C-reactive protein
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HRM	: High Resolution Melting
IBS	: Irritable Bowel Sydrome
NGS	: Next Generation Sequencing
QIIME	: Quantitative Insaights Into Microbial Ecology
ASV	: Amplicon Sequence Variants

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Benzen halkası ve fenol yapısı.....	7
Şekil 2 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	8
Şekil 3 Basit flavonoid yapısı (Kumar ve ark. 2013).....	8
Şekil 4 Flavonoidlerin basit yapısı.....	9
Şekil 5 Fenolik bileşiklerin metabolizması	14
Şekil 6 İntestinal Mikrobiyotanın Dağılımı	25
Şekil 7 Normalize erime eğrisi örneği	52
Şekil 8 Normalize edilmiş erime eğrisi profillerinin %95 ve üzeri benzerlik oranı ile hazırlanmış dendrogram.....	54
Şekil 9 Çalışma Grubunda Filum Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar	62
Şekil 10 Çalışma Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar	65
Şekil 11 Çalışma Grubunda Cins Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar.....	68
Şekil 12 Kontrol Grubunda Filum Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar	71
Şekil 13 Kontrol Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar.....	73
Şekil 14 Kontrol Grubunda Cins Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar	76



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1 Fenolik bileşikler ve gıda kaynakları.....	15
Çizelge 2 Üzümlerin çeşitli kısımlarından ve ürünlerinden elde edilen fenolik bileşikler.....	17
Çizelge 3 Sağlıklı Beslenme Planı Örneği.....	42
Çizelge 4 Bact342F ve Bact534R primer dizileri	45
Çizelge 5 HRM analizinde kullanılan mix içeriği.....	45
Çizelge 6 PZR koşulları	46
Çizelge 7 Bact341F ve Bact805R primer dizileri	47
Çizelge 8 PZR reaksiyon mix	47
Çizelge 9 PZR koşulları	48
Çizelge 10 PZR reaksiyon mix	48
Çizelge 11 PZR koşulları	49
Çizelge 12 Çalışmaya katılan gönüllülerin cinsiyet dağılımları	51
Çizelge 13 Çalışmaya katılan gönüllülerin yaş, kilo, boy, VKİ verilerinin dağılımı.	52
Çizelge 14 HRM Gruplarında Örneklerin Dağılımı.....	55
Çizelge 15 HRM Gruplarında Çalışma Grubu Örneklerin Dağılımı	56
Çizelge 16 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında HRM Gruplarının Dağılımı	58
Çizelge 17 HRM Gruplarında Kontrol Grubu Örneklerin Dağılımı.....	59
Çizelge 18 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında HRM Gruplarının Dağılımı	60
Çizelge 19 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	61
Çizelge 20. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi	63
Çizelge 21 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Aile Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	64

Çizelge 22. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi	66
Çizelge 23 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	68
Çizelge 24. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi	69
Çizelge 25 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	70
Çizelge 26. Kontrol grubunda diyet öncesi ve diyet sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi.....	72
Çizelge 27 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Aile Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	73
Çizelge 28. Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi	75
Çizelge 29 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları.....	76
Çizelge 30. Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi	78

I. GİRİŞ

Bitkiler, büyüme ve gelişme için gerekli olan primer metabolitlerin yanı sıra, fitokimyasal olarak adlandırılan ve bitkilerin sekonder metabolizması sonucu insan sağlığına faydalı etkileri olan biyoaktif bileşenler de üretmektedirler. Benzen halkasına bir veya birden fazla hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelen fenolik bileşenler, fitokimyasalların önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar. Fenolik bileşenler bitkilerin gövde, yaprak, çiçek gibi birçok bölümünde, çeşitli meyve ve sebzelerde, kırmızı şarap, yeşil çay gibi içeceklerde bulunurlar (Pandey ve Rizvi, 2009).

Diyetin önemli bir bileşeni olan fenolik bileşenlerin, meyve ve sebzelerde oluşturdukları tat ve aroma gibi işlevlerinin yanı sıra insan sağlığı üzerinde önemli etkileri de söz konusudur. Gösterdikleri antioksidan etki sayesinde serbest radikalleri bağlayabilir veya metallerle şelat oluşturabilmektedirler. Bunun yanı sıra antiinflamatuar, antialerjik, antikarsinojenik, antihipertansif ve antimikrobiyal etki gösterebilmektedirler (Scalbert vd.,2005; Graf vd., 2005). İnsan sağlığı üzerindeki bu faydalı etkilerinden dolayı fenolik bileşen açısından zengin gıdalar beslenme alanında ilgi çekici hale gelmiştir.

İnsan vücudu, mikrobiyota olarak adlandırılan ve çoğunlukla bakterilerden oluşan birçok topluluğu ve bunların genomlarını (mikrobiyom) barındırmaktadır. İnsan Mikrobiyom Projesi ile birlikte mikrobiyotadaki mikroorganizma sayısının vücut hücrelerinden 10 kat; mikrobiyomun ise insan genomundan yaklaşık 300 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yeni nesil dizileme teknikleriyle birlikte kültürü yapılamayan mikroorganizmalar da belirlenmiş ve gastrointestinal sistemde en yoğun ve en çeşitli mikroorganizmaları içeren bağırsak mikrobiyotasının yaklaşık 10 ila 100 trilyon mikroorganizmadan oluştuğu saptanmıştır (Lloyd-Price vd.,2016; McDonald vd., 2017). Yeni nesil dizileme teknolojisindeki son gelişmeler sayesinde, bağırsak mikrobiyotasının çoğunluğunun *Firmicutes* (~% 65), *Bacteroidetes* (~% 20), *Proteobacteria* (~% 8), *Actinobacteria* (~% 3) ve *Verrucomicrobia* (~%2)

filumlarına ait olduğu gözlenmiştir (Liv vd.,2014; Eckburg vd.,2005). Bağırsak mikrobiyotası parmak izi gibi olup, her insanın kendine özgü içeriği ve dağılımı mevcuttur. Mikrobiyota, coğrafi köken, genetik, doğum şekli, yaş, yaşam tarzı, beslenme, antibiyotik kullanımı gibi kişinin yaşamı boyunca değişen faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyetin bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesinde en önemli faktörlerden biri olduğunu göstermiştir (Yatsunenko vd.,2012; Hasan ve Yang, 2019).

Diyetimizin önemli bir bileşeni olan fenolik bileşikler ile bağırsak mikrobiyotası arasında iki yönlü bir etkileşim olduğu kabul edilmektedir. Hem diyetten elde edilen hem de bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edilen fenolik bileşenler, bağırsak mikrobiyota türlerindeki değişikliklerin modüle edilmesinde rol oynamaktadır. Fenolik bileşiklerin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi yararlı bakterilerin sayısını artıran ve patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösteren prebiyotik benzeri bir özellik sergiledikleri gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar ile polifenoller içeren beslenme stratejilerinin oluşturulmasında katkı sağlayabileceği düşünülmüştür (Tzounis vd., 2011; Selma vd., 2009).

Üzüm, fenolik bileşenler açısından en zengin meyveler arasında yer almaktadır. Üzümün cinsi, yetiştiği toprak, coğrafi konum, iklim koşulları, hasat zamanı vb. faktörler fenolik bileşen kompozisyonunu ve miktarını etkileyebilmektedir (Rienth vd., 2021). Hardaliye, koyu renkli üzümlerden (Cabernet, Merlot, Şiraz vb.) elde edilen alkolsüz ve fermente bir içecektir. Kırklareli ve Trakya bölgesinde hardaliye üretiminin yaklaşık 500 yıllık bir geçmişi olduğu varsayılır. Ezilmiş koyu renkli ve kokulu üzümlere benzoik asit ve ezilmiş hardal tohumu ilave edilerek ve laktik asit fermantasyonuna uğrayarak elde edilir. Benzoik asit mayalara etki ederek, alkol oluşumunu önler veya azaltır. Hardal tohumu yapısında bulunan alil izotiyosiyanatlar büyük ölçüde hardalın kendine özgü aromasını oluşturur. Ayrıca maya aktivitesini de azaltarak alkol oluşumunu azaltabildiği gösterilmiştir (Arıcı ve Coşkun, 2001; Coşkun, 2017). Yapılan çalışmalarda alil izotiyosiyanatın gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra antikanser etki de gösterdiği bildirilmiştir. Hardaliye tüketen kişilerde ise hardaliyenin içerdiği fenolik bileşenlerden kaynaklanan antioksidan kapasite sayesinde dien konjugat, malondialdehit ve homosistein konsantrasyonlarında anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (Amoutzopoulos vd., 2013).

Yapılan alışmalar, diyetle bulunan fenolik bileşikler ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki çift yönlü etkileşimin bağırsak sağılıının korunmasına katkıda bulunabileceğine dair kanıtlar sunmaktadır (Cardona vd., 2013). Mevcut literatür verileri incelendiğinde, hardaliye konusunda oldukça az sayıda araştırma olduğu ve çoğunun hardaliyenin antioksidan aktiviteleri üzerine yoğunlaştığı görülmüştür. Bununla birlikte in vitro ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, üzümden ve şaraptan elde edilen fenolik bileşiklerin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkileyebileceğini göstermesine rağmen, insan çalışması oldukça sınırlıdır ve literatürde hardaliyenin insan bağırsak mikrobiyotasına etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde ilk defa yapılmış olan bu çalışmada, hardaliye tüketiminin sağılıklı bireylerin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.



II. GENEL BİLGİLER

A. Hardaliye

Trakya bölgesinde özellikle Kırklareli ve çevresine özgü olan hardaliye, ana ham maddesi yaş üzüm olan, alkolsüz ve fermente bir içecektir. Hardaliye üretimine Osmanlı döneminde başlandığı ve hardaliyenin 500 yıllık bir geçmişe sahip geleneksel bir içecek olduğu bilinmektedir. Evlerde yapılabildiği gibi son 10 yıldır yöresel kuruluşlar tarafından ticari olarak üretilmekte ve bu içeceğin tanıtımı konusunda çalışmalar sürdürülmektedir (Trakya Kalkınma Ajansı, 2014).

Hardaliye üretimi için hazırlıklar bağ bozumu sonrasında başlamakta ve Eylül ayından itibaren Ekim ve Kasım ayları boyunca üretime devam edilmektedir. Hardaliye üretiminde Kırklareli yöresinde yetişen, koyu renkli ve kokulu olan Alphonse, Papazkarası, Pamit, Cardinal, Cabernet, Merlot ve Şiraz cinsi üzümler tercih edilmektedir. Hardaliye üretim sürecinde olgunlaşan üzümler toplanıp yıkanır ve kabukları kırılacak kadar ezilir. Üzümlerin saplarından ayrılması ve ezilmesi sonucunda oluşan şıra ve ezilmiş üzüm tanelerinden elde edilen karışım paslanmaz çelik kazanlara veya meşe fiçılara aktarılır. Elde edilen bu karışım üzerine vişne yaprakları, % 0.2 oranında kırılmış çiğ siyah hardal tohumu ve % 0.1 oranında benzoik asit ilave edilir (Arıcı ve Coşkun, 2001; Coşkun, 2017). Hardaliye üretiminde kullanılan benzoik asit mayalara etki ederek, alkol oluşumunu önler. Hardal tohumu yapısında bulunan alil izotiyosiyanatlar büyük ölçüde hardalın kendine özgü aromasını oluşturur. Ayrıca maya aktivitesini ve alkol oluşumunu azaltabildiği gösterilmiştir. Ortam ısısının 20-25 derece olması tercih edilmektedir. Bu şekilde fermentasyona bırakılan karışım yaklaşık 20 gün içerisinde içilecek hale gelmektedir. Fermantasyon tamamlandıktan sonra, meyve suyu süzülür ve şişelenerek 4-6 ay süreyle +4°C'de saklanır. Elde edilen hardaliye, hoş kokulu, hafif yakıcı bir tada sahiptir ve alkolsüzdür. Hardaliye, alkolsüz olması ve tatlımsı tadı sebebiyle; küçük çocuklar, yağ içermemesi sebebiyle; hiperlipidemik bireyler, süt

içermemesi sebebiyle; laktoz intoleransı olan bireyler ve ayrıca vejetaryen kişiler tarafından tüketilebilir bir içecektir (Coşkun, 2017).

Hardaliye, insan sağlığına faydaları açısından son yıllarda araştırmacıların çalışma konusu olmuştur. Yapılan çalışmalarda hardal tohumunun yapısında bulunan alil izotiyosiyanatın gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra antikanser etki de gösterdiği bildirilmiştir (Arıcı ve Coşkun, 2001). Laktik asit fermantasyonu ile üretilen hardaliyenin yapısında *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*, *Lactobacillus casei subsp. pseudopantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus acetotolerans*, *Lactobacillus sanfransisco* ve *Lactobacillus vaccिनostercus* gibi laktik asit bakterileri tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri (LAB) asiditeyi arttırarak antimikrobiyal özellik sergilemektedirler ve bunun yanı sıra antitümoral aktivite, serum kolesterolünün düşürülmesi, laktoz intoleransının hafifletilmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması, bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu gibi probiyotik özellikleri nedeniyle de araştırmacıların ilgisini çekmiştir (Masood vd., 2011).

Son yıllarda yapılan in vitro çalışmalarda ev yapımı ve ticari olarak üretilen hardaliyenin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Gündüz vd., 2019). Klinik çalışmalar ise oldukça sınırlı olmakla birlikte hardaliye tüketen kişilerde hardaliyenin antioksidan kapasitesi sayesinde dien konjugat, malondialdehit ve homosistein konsantrasyonlarında anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (Amoutzopoulos vd., 2013). Hardaliyenin sahip olduğu bu biyolojik özelliklerin, üretimde kullanılan üzümlerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin çeşitliliği ve miktarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Amoutzopoulos vd., 2013, Gündüz vd., 2019).

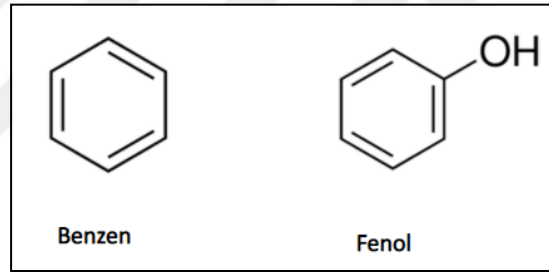
1. Fenolik Bileşikler

a. Fenolik Bileşiklerin sınıflandırılması

Bitkilerden izole edilmiş ve tanımlanmış yaklaşık 200.000'den fazla kimyasal bulunmaktadır. Bu kimyasallar primer ve sekonder metabolitler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi primer metabolitler bitkinin gelişimi için gereklidir. Sekonder metabolitler ise yapıları primer metabolitlere kıyasla çok çeşitlidir. Sinyal bileşikleri olarak işlev görürler;

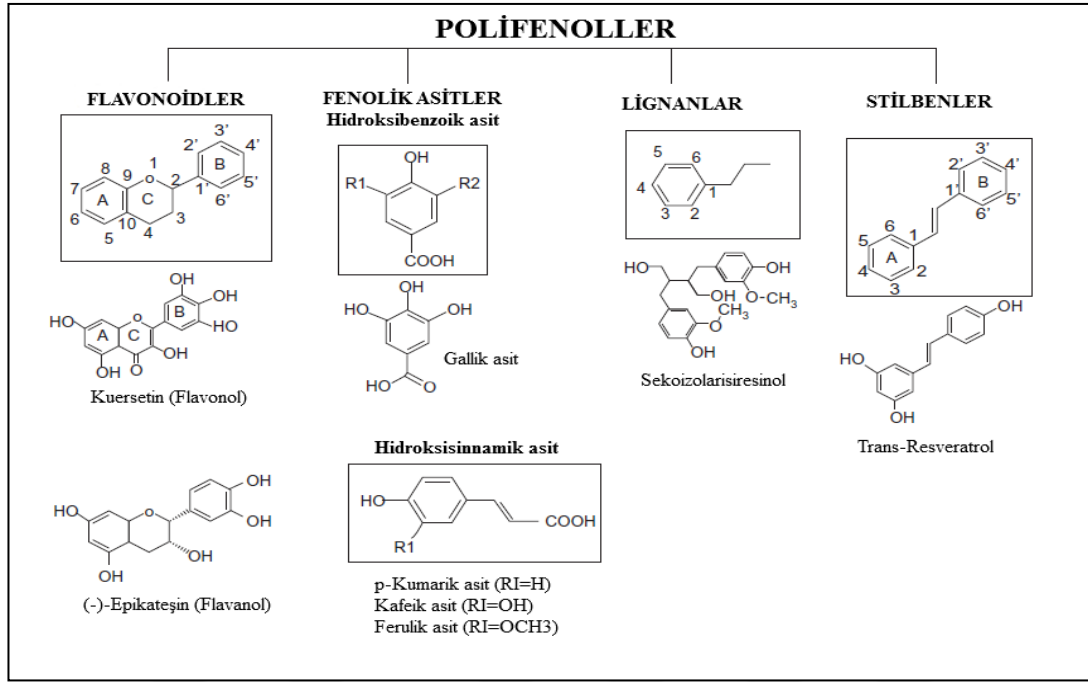
tozlayıcıları veya hayvanları tohum dispersiyonu için çekerler, ayrıca bitkiyi oksidanlardan ve ultraviyole radyasyondan korurlar (Chikezie vd., 2015;Teoh, 2015).

Sekonder metabolitler, biyosentetik yollarına ve yapılarına göre sınıflandırılır; üç ana gruba ayrılırlar: fenolik bileşenler, terpenoidler, nitrojen içeren alkaloidler ve sülfür içeren bileşikler. Fenolik bileşikler, bitkilerde daha yaygın olarak bulunan sekonder metabolitlerden biridir. Bitkilerdeki pentoz fosfat, shikimat ve fenilpropanoid yollardan türetilirler. Bu tür bileşikler, patojenlere ve avcılara karşı koruma sağlayarak bitkilerin büyümesi ve çoğalmasında önemli bir rol oynar. Ayrıca sebze ve meyvelerin renk ve duyuşal özelliklerine katkıda bulunurlar (Chikezie vd., 2015;Teoh, 2015). Bir benzen halkasına bir veya daha fazla hidroksil molekülün bağlanmasıyla oluşan fenolik bileşikler, yapılarındaki fenollerin sayısına göre basit fenoller veya polifenoller olarak isimlendirilirler (Şekil 1) [The Phenyl Group. <https://chem.libretexts.org/@go/page/847> (Erişim Tarihi: 13 Eylül 2020); Heleno vd., 2015)].



Şekil 1 Benzen halkası ve fenol yapısı

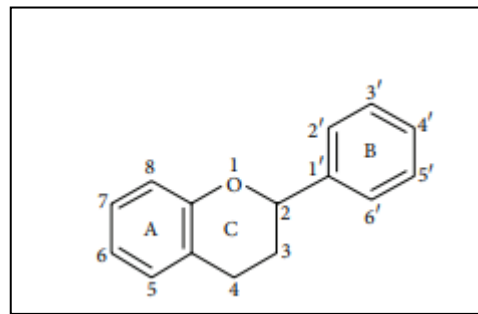
Fenolik bileşikler, basit fenolik moleküllerden yüksek derecede polimerize bileşiklere kadar çeşitlilik gösterebilirler. Bir veya daha fazla fenolik grupla ilişkili mono- ve polisakkaritlerle konjugatlar halinde bulunabilir, esterler ve metil esterlere de bağlanabilirler. Yapılarındaki çeşitlilik nedeniyle doğada çok çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Şu anda 8000'den fazla fenolik bileşik yapısı bilinmektedir. Fenolik bileşikler, molekül yapılarındaki fenol birimlerinin sayısına, substitusyon gruplarına, fenol birimleri arasındaki bağlanma şekillerine göre flavonoidler ve fenolik asitler, lignanlar, stilbenleri içeren flavonoid olmayan bileşiklerden oluşmaktadır (Şekil 2) (Del Rio vd., 2013; Celep vd., 2014: 577–589).



Şekil 2 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

i. Flavonoidler

En büyük fenolik bileşik grubunu flavonoidler oluşturmaktadır. Bitkisel besinlerde bulunan 8000'den fazla fenolik bileşik içinde 6000'den fazla bileşik flavonoidlere aittir. Düşük molekül ağırlığına sahiplerdir. Kimyasal olarak flavonoidler, bir heterosiklik piran halkası (C) ile bağlanan iki benzen halkasından (A ve B) oluşan C6 – C3 – C6 olarak düzenlenmiş 15 karbonlu bir iskelete dayanır (Şekil 3) (Kumar ve Pandey, 2013).

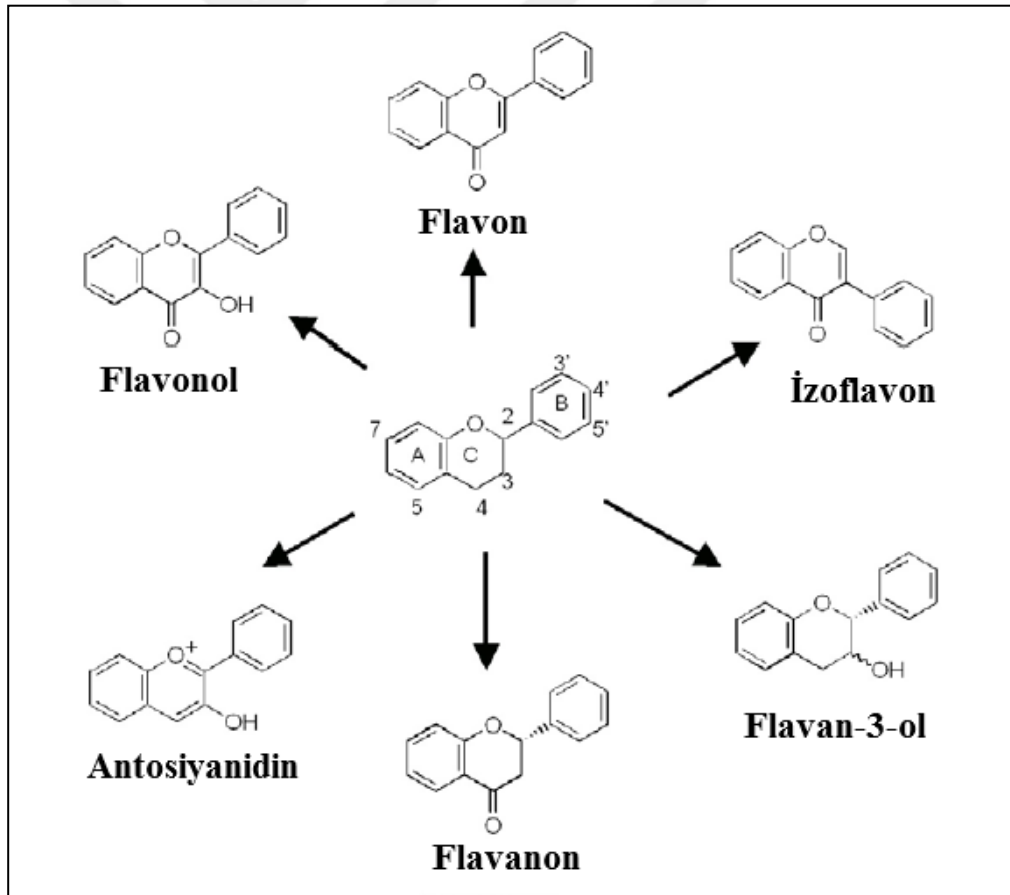


Şekil 3 Basit flavonoid yapısı (Kumar ve ark. 2013)

Flavonoidler, aglikonlar, glikozitler ve metillenmiş türevler olarak ortaya çıkar. Temel flavonoid yapı aglikondur (Şekil 3) (Kumar ve Pnadey, 2013; Lafay ve Gil-Izquierdo, 2008). Genellikle glikozit adı verilen şekere bağlı olarak bitkilerde depolanırlar. Flavonoidlerin bağlı formu, serbest halinden daha karardır, ancak, sindirildiklerinde nispeten zayıf biyoyararlanıma sahiptirler. Bağlı flavonoidler, O-

veya C-glikozitler ile konjuge edilir. Glikoz, galaktoz, ramnoz, apioz gibi şeker kalıntıları O-glikozitler için genellikle 3-, 7- veya 4-hidroksil gruplarına bağlanır, C-glikozitler için şeker kalıntıları doğrudan C-6 veya C-8'e bağlanır (Cook ve Samman, 1996).

Flavonoid moleküllerinin kökenleri, A halkasının türetildiği asetat/malonat yolundan ve B halkasının fenilalaninden türetildiği shikimat yolundan gelmektedir. C halkaları esas olarak flavonoid sınıflarının çeşitliliğinden sorumludur. A ve B halkalarındaki varyasyonlar, flavonoidler sınıfı içinde farklı bileşiklere yol açar. Bu tür varyasyonlar, oksijenasyon, alkilasyon, glikosilasyon, sülfasyon ve asilasyon substitüsyonlarından kaynaklanmaktadır. Substitüsyon yapılarındaki varyasyonlar flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller (kateşinler), izoflavonlar, flavanonoller ve antosiyanidinler gibi başlıca flavonoid sınıflarının oluşmasını sağlar (Şekil 4) (Birt ve Jeffery, 2013; Nishiumi vd., 2011).



Şekil 4 Flavonoidlerin basit yapısı

Flavonlar: Flavonlar, flavonoidlerin önemli alt gruplarından biridir. C halkasının 2. ve 3. konumları arasında bir çift bağa ve 4. konumda bir ketona

sahiptirler. Flavonlar yapraklarda, çiçeklerde ve meyvelerde glukozitler olarak yaygın şekilde bulunur. Kereviz, maydanoz, kırmızı biber, papatya, nane ve ginkgo biloba başlıca flavon kaynakları arasındadır. Luteolin, apigenin ve tangeritin bu flavonoid alt sınıfına aittir (Şekil 2). Turunçgillerin kabukları polimetoksile flavonlar, tageretin, nobiletin ve sinensetin bakımından zengindir (Panche vd., 2016).

İzoflavonoidler: İzoflavonoidler, flavonoidlerin büyük ve çok farklı bir alt grubudur. İzoflavonoidler, bitkiler aleminde yalnızca sınırlı bir dağılıma sahiptir ve ağırlıklı olarak soya fasulyesi ve diğer baklagil bitkilerinde bulunur. Bazı izoflavonoidlerin de mikroplarda bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca bitki mikrop etkileşimleri sırasında fitoaleksinlerin gelişiminde öncüler olarak önemli bir rol oynadıkları bulunmuştur. İzoflavonoidler, bir dizi hastalıkla savaşmak için muazzam bir potansiyel sergiler. Genistein ve daidzein gibi izoflavonlar, bazı hayvan modellerinde östrojenik aktiviteleri nedeniyle genellikle fitoöstrojenler olarak kabul edilir (Panche vd., 2016).

Flavan-3-oller: Dihidroflavonoller veya kateşinler olarak da adlandırılan flavanoller, flavanonların 3-hidroksi türevleridir. Oldukça çeşitli ve çok ikameli bir alt gruptur. Birçok flavonoidin aksine, 2 ve 3. pozisyonlar arasında çift bağ yoktur. Hidroksil grubu her zaman C halkasının 3. konumuna bağlı olduğu için flavanoller ayrıca flavan-3-oller olarak da adlandırılır. Flavanoller üzüm, böğürtlen, muz, elma, yaban mersini, şeftali ve armutta bol miktarda bulunur (Panche vd., 2016; Singla vd., 2019).

Diğer flavonoid sınıflarının aksine flavan-3-oller gıdalarda aglikon formda bulunurlar. Buna ilaveten kateşinler ve epikateşinler olarak adlandırılan monomerik birimler ve tanenler olarak adlandırılan polimerik formlar şeklinde bulunabilirler. Kateşin izomeri, (+)-kateşin ve (-)-kateşin olmak üzere iki stereoizomerin trans konfigürasyonunu gösterirken, epikateşin, (+)-epikateşin ve (-)-epikateşin stereoizomerlerinin cis konfigürasyonuna sahiptir (Singla vd., 2019).

Polimerik flavanollerle ilişkili olarak, bu yapılar suda iyi çözünürlük ve nispeten yüksek bir moleküler ağırlık sergiler ve tanenler olarak bilinirler. Alkaloidler, polisakkaritler ve proteinler ile komplekslerde bulunan tanenler, hidrolize edilebilir tanenler ve yoğunlaştırılmış tanenler olarak iki gruba ayrılır. Yoğunlaştırılmış tanenler olarak adlandırılan kateşin, epikateşin ve/veya

l koantosiy ninin polimerleri, odunsu bitkilerde en bol bulunan polifenollerdir. Yoğunlaştırılmış tanenler, oksidatif koşullar altında antosiy nidlere dönüşme yeteneklerinden dolayı proantosiy ninin ismini de almıştır. Gallik ve ellajik asitlerin esterleri, hidrolize edilebilir tanenler olarak bilinir. Bir glikoz molekülü, hidrolize edilebilir tanin molekülünün merkezidir, burada hidroksil grubu gallik veya elajik asit ile esterleştirilerek sırasıyla allotanninleri veya ellagitanninleri oluşturur (Singla vd., 2019).

Flavanonlar: Flavanonlar genellikle portakal, limon ve üzüm gibi tüm turunęgillerde bulunan önemli bir sınıftır. Hesperitin, naringenin ve eriodictyol, bu flavonoid sınıfının örnekleridir. Bu bileşikler, turunęgillerin suyunun ve kabuğunun acı tadından sorumludur (Singla vd., 2019). Dihidroflavonlar olarak da adlandırılan flavanonlar, doymuş C halkasına sahiptir; bu nedenle, flavonlardan farklı olarak, 2 ve 3 konumları arasındaki çift bağ doymuştur ve bu, flavonoidlerin iki alt grubu arasındaki tek yapısal farktır (Panche vd., 2016).

Antosiy ninler: Antosiy nidlere ve antosiy ninler, heterosiklik halkalarında iki çift bağ bulunmasıyla diğer flavonoidlerden farklılık gösterir. Antosiy ninler, antosiy nidlere glikosile edilmiş formudur ve B halkası üzerindeki hidroksilasyon ve metoksilasyon modelleri ile karakterizedir. Hidroksile grupların sayısındaki ve yapılarına bağlı şeker birimlerinin yapısı ve sayısındaki değişiklik, çeşitli antosiy ninlerle sonuçlanır. Bağlanmış şeker birimleri genellikle glikoz, galaktoz ve arabinoz gibi monosakkaritlerdir. Glikosile antosiy ninler, renkli çiçeklerde ve meyvelerde bulunan suda c z n r pigmentlerdir; sergilenen renklerin çoğu bu bileşiklerden kaynaklanır. Siyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin ve peonidin en yaygın olan antosiy ninlerdir. Kızılılık, siyah kuş üzümü, kırmızı üzüm, merlot üzümü, ahududu,  ilek, yaban mersini ve böğürtlen gibi çeşitli meyvelerin dış hücre katmanlarında ağırlıklı olarak bulunurlar. Antosiy ninin rengi pH'a ve ayrıca A ve B halkalarındaki hidroksil gruplarında metilasyon veya asilasyonuna bağlıdır (Panche vd., 2016; Singla vd., 2019).

Flavonoller: Flavonoller, keton grubuna sahip flavonoidlerdir. Proantosiy ninlerin yapı taşlarıdır. Flavonlarla karşılaştırıldığında flavonoller, glikosile edilebilen C halkasının 3. pozisyonunda bir hidroksil grubuna sahiptir. Flavonlar gibi, flavonoller de metilasyon ve hidroksilasyon modellerinde çok çeşitlidir ve farklı glikosilasyon modelleri göz önüne alındığında, meyve ve

sebzelerde flavonoidlerin belki de en yaygın ve en büyük alt grubudur (Panche vd., 2016; Heim vd., 2002).

Flavonoller, çeşitli meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunur. En çok çalışılan flavonoller kaempferol, kuersetin, mirisetin ve fisetin'dir. Soğan, lahana, marul, domates, elma, üzüm ve meyveler zengin flavonol kaynaklarıdır. Meyve ve sebzelerin yanı sıra çay ve kırmızı şarap da flavonol kaynaklarıdır (Panche vd., 2016; Heim vd., 2002).

ii. Nonflavonoidler

Polifenol yapısal iskelet aromatik halkalar üzerinde birkaç hidroksil grubu içermesine rağmen, nonflavonoidlerin temel yapısı tek bir aromatik halkadır. Flavonoid olmayan bileşikler arasında fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar bulunur (Singla vd., 2019).

Fenolik asitler: Nonflavonoidler ağırlıklı olarak fenolik asitlerle temsil edilir. Hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşik, sirinik ve vanillik asitler en yaygın hidroksibenzoik asitlerdir. Hidroksibenzoik asitler olarak sınıflandırılan sekiz fenolik asit vardır: p hidroksibenzoik, vanilik, sirinik, gallik, veratrik, gentisik, benzoik ve protokateşik asit. Serbest asitler olarak veya konjuge formlarında (glikozitler veya esterler) bulunurlar. Öte yandan, hidroksisinnamik asitlerdeki aromatik halka, üç karbonlu bir yan zincire (C6 – C3) sahiptir. Kafeik, ferulik, p-kumarik ve sinapik asitler, gıdalarda yaygın olarak bulunan en yaygın hidroksisinnamik asitlerdir. Ferulik, kafeik, sinapik, sinnamik asit, o-kumarik asit, m-kumarik asit ve p-kumarik asitler gibi yedi fenolik asit içerir (Singla vd., 2019; Saibabu vd., 2015).

Stilbenler: Stilbenler iki karbonlu bir metilen köprüsü ile birbirine bağlanan iki fenil gövdesinden oluşmaktadır. Stilbenler, hem izomerik formlarda (cis ve trans konfigürasyonlarında) bulunur, hem de serbest ve glikosile formlarda bulunur. En iyi bilinen stilbenlerden biri, üzüm, yer fıstığı ve çilek gibi çeşitli bitkiler tarafından üretilen resveratroidir (Singla vd., 2019; Galiniak vd., 2019).

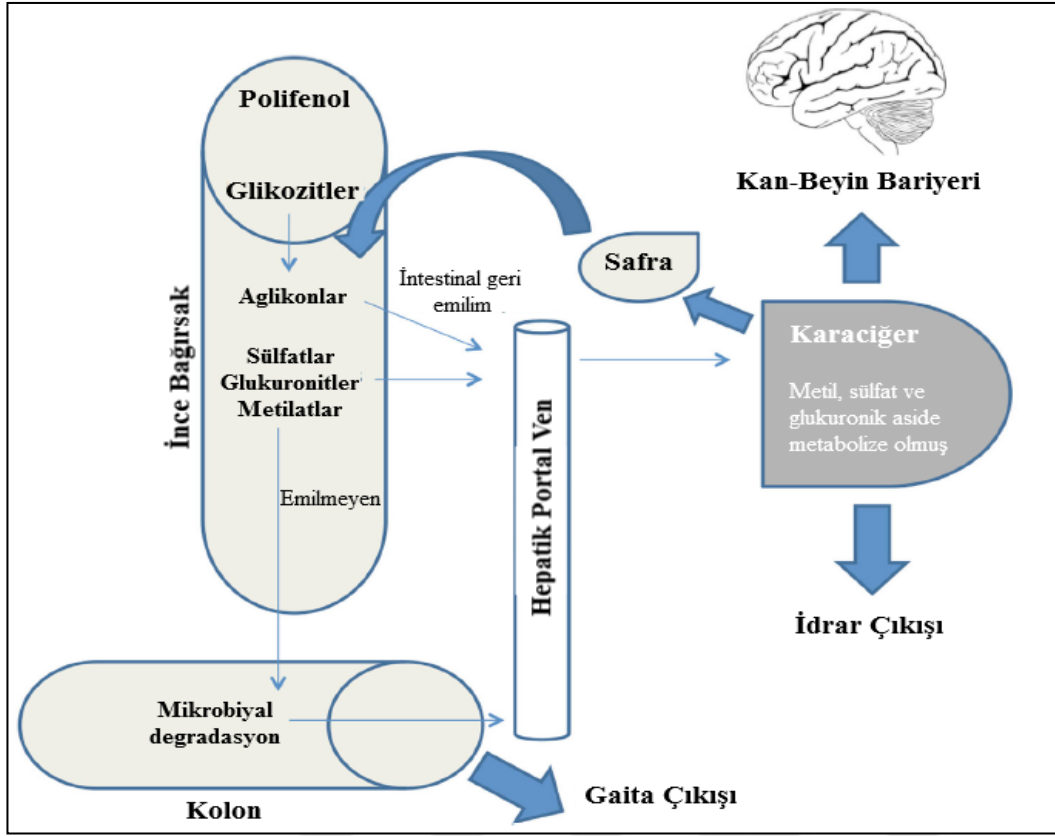
Lignanlar: Lignanlar, iki fenil-propan biriminin oksidatif dimerizasyonunun ürünleri olan difenolik bileşiklerdir. Glikosile edilmiş yapı fazla değildir, esas olarak serbest formda bulunurlar. Lignanlar baklagillerde, tohumlarda ve bitkisel yağlarda

bulunur. Sekoizolarisiresinol gibi lignanlar fitoöstrojenler olarak sınıflandırılır. Sekoizolarisiresinolün en bol diyet kaynağı, keten tohumudur (Durazzo vd.,2019).

b. Fenolik Bileşiklerin Metabolizması

Bitkilerde polifenoller glikosile edilmiş formlarda meydana gelmekte olup esterleşme veya polimerizasyon gibi modifikasyonlar da yaygın olarak bulunmaktadır. Polifenoller, sindirildikten sonra insan vücudu tarafından ksenobiyotikler olarak tanınır ve bu nedenle biyoyararlanımları mikro ve makro besinlere kıyasla nispeten düşüktür. Yapısal karmaşıklık ve polimerizasyon derecelerine bağlı olarak, monomerik ve dimerik yapılar gibi düşük moleküler ağırlıklı polifenoller ince bağırsakta kolaylıkla emilebilirler. 40.000 Da'ya yakın moleküler ağırlığa sahip oligomerik ve yoğunlaştırılmış veya hidrolize edilebilir tanenler gibi polimerik polifenoller ise kolona neredeyse değişmeden ulaşabilirler (Cardona vd., 2013; Manach vd., 2004).

Diyetle alınan toplam polifenolün yalnızca %5-10'u genellikle deglikosilasyon gibi dekonjugasyon reaksiyonlarından sonra ince bağırsakta doğrudan emilebilir. İnce bağırsakta emildikten sonra bu polifenolik bileşikler enterositlerde ve daha sonra hepatositlerde Faz I (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) ve Faz II (konjugasyon) biyotransformasyonlara tabi tutulabilir ve bu da bir dizi suda çözünür konjuge metabolitler (metil, glukuronit ve sülfat türevleri) ile sonuçlanarak organlara dağıtım ve idrarla atılım için sistemik dolaşıma hızla serbest bırakılırlar. Kalan polifenoller (toplam polifenol alımının %90-95'i), kalın bağırsak lümeninde birikebilir ve burada safra yoluyla bağırsak lümenine atılan konjugatlarla birlikte bağırsaktaki mikrobiyal topluluklarla birlikte deglikosilasyon, dehidroksilasyon ve demetilasyon reaksiyonları gerçekleşebilir ve farklı fizyolojik öneme sahip ardışık metabolitlere metabolize edebilirler (Şekil 5) (Cardona vd., 2013; Manach vd., 2004; Caruana vd., 2016).



Şekil 5 Fenolik bileşiklerin metabolizması

c. Fenolik bileşiklerin diyet kaynakları

Günlük polifenol tüketimi ve sağlığa yararları konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Polifenollerde yüksek yapısal çeşitlilik nedeniyle, diyet takviyelerindeki fenolik bileşiklerin miktarını tahmin etmek zordur. Bununla birlikte, çeşitli çalışmalar, bitki fenollerinin günlük toplam alımının yaklaşık 150-1000 mg olduğunu göstermektedir (Pathak vd., 2018: 347–359).

Başlıca polifenol kaynakları arasında meyve, meyve suyu, kırmızı şarap, kahve, çay bulunmaktadır (Çizelge 1) (Fraga vd., 2019). Diğer kaynaklar arasında sebzeler, kuru baklagiller ve tahıllar yer almaktadır. Flavonoidler, insan diyetinde bulunan en önemli fenolik bileşik sınıflarındandır ve günlük toplam polifenol tüketiminin yaklaşık üçte ikisini oluşturur. Fenolik asitler ise günlük toplam polifenol tüketiminin üçte birini oluşturmaktadır (Fraga vd., 2019; Corcoran vd; 2012).

Çizelge 1 Fenolik bileşikler ve gıda kaynakları

Fenolik bileşik sınıfı	Fenolik bileşik	Gıda kaynakları
Flavonoller	Kuersetin Mirisetin Kaempferol	Siyah çay, yeşil çay, kırmızı şarap, beyaz şarap, ceviz, badem, siyah çikolata, çiğ ıspanak, soğan, brokoli, lahana, portakal, elma (kabuğu ile), yaban mersini
Flavan-3-oller	(+)-Kateşin, (-)-Epikateşin (-)-Epikateşin-3-gallat (-)-Epigallokateşin-3-gallat	Siyah çay, yeşil çay, kırmızı şarap, badem, fındık, elma (kabuğu ile), yaban mersini, siyah çikolata
Flavanonlar	Eradiktiol, Naringenin Hesperetin	Turunçgiller ve suları, domates ve domatesten elde edilen ürünler
Flavonlar	Apigenin, Luteolin	Tahıl karışımları, bitkisel yağlar, kereviz, tatlı biber
Izoflavonlar	Daidzein, Genistein, Glistein	Soya, soya peyniri, baklagiller
Antosiyaninler	Siyanidin, Delfinidin, Petunidin, Malvidin, Peonidin	Kırmızı şarap, yaban mersini, nar
Proantosiyanidinler	Prosiyanidinler (epikateşin oligomerleri) Prodelfinidin (epigallokateşin polimerleri)	Üzüm çekirdeği, kırmızı şarap, siyah frenk üzümü, yaban mersini, yeşil çay, siyah çay, kakao, fıstık
Fenolik asitler	Gallik asit, prokateşik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit	Kahve, kırmızı şarap, baharatlar, sebzeler, tam tahıllar, hububat
Lignan	Sekoisolarisiresinol	Tam kepekli tahıllar, keten tohumu
Stilben	Resveratrol	Kırmızı şarap, üzüm

Mahsüllerin olgunluk derecesi, hasat zamanı, toprak tipi, güneşe maruz kalma, komşu alleliopatik mahsullerin varlığı ve yağış gibi çeşitli çevresel ve edafik faktörler polifenollerin içeriğini etkileyebilmektedir. Gıdaların pişirilmesi ve depolanması fenolik bileşik içeriğini ve miktarını değiştirebilir. Fenolik bileşik açısından zengin gıdaların depolanması, polifenollerin oksidasyonu ile sonuçlanarak, gıdanın renginde ve kalitesinde değişikliklere yol açar. Bu değişikliklerin bazıları siyah çayda olduğu gibi yararlı olabilir, ancak meyvelerin kahverengileşmesi durumunda da zararlı hale gelebilir. Çeşitli çalışmalar, polifenol açısından zengin bir gıdanın 6 aylık bir süre boyunca depolanmasının polifenolik içeriğin %70 oranında azalmasına yol açabileceğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada pişirme ve haşlama ile domates ve soğan gibi meyve ve sebzelerin, kuersetin içeriğinin yaklaşık %75-80'ini kaybedebileceği bildirilmiştir (Pathak vd., 2018: 347–359; D'archivio vd., 2007).

i. Üzümde yer alan fenolik bileşikler

Fenolik bileşen açısından sahip olduğu çeşitlilik sebebiyle üzüm, diyetimizde bulunan en önemli meyvelerden biridir. Üzüm ve üzümde elde edilen ürünlerde en sık saptanan fenolik bileşenler, flavonoidler, fenolik asitler ve stilbenler grubunda yer almaktadır. Üzümün daha çok çekirdek ve kabuk kısmında bulunan flavonoidler içerisinde en baskın olan sınıf flavan-3-oller olup bu grupta (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (-)-epigallokateşin gibi bileşikler yer almaktadır. Flavonoidler içerisinde yer alan diğer bir önemli grup flavonoller olup, kuersetin, myricetin, hiperosit (kuersetin-3-O-galaktozid) gibi bileşikler bu grup içerisinde yer alır. Fenolik asitler ise üzümün daha çok kabuk ve posasında bulunmaktadır. p-koumarik asit, kafeik asit gibi fenolik bileşenler bu grup içerisinde yer alır. Üzüm ve üzümde elde edilen ürünlerde bulunan bir diğer fenolik bileşen ise stilbenler sınıfında yer alan resveratrol'dür (Çizelge 2) (Xia vd., 2010; Cosme vd., 2018).

Çizelge 2 Üzümlerin çeşitli kısımlarından ve ürünlerinden elde edilen fenolik bileşikler

Üzümden elde edilen ürün	Fenolik Bileşik	Kaynak
Üzüm çekirdeği	Gallik asit, (+)-kateşin, epikateşin, proantosiyantinler, dimerik proantosiyantin	(Pastrana vd., 2003; Hernandez-Jimenez vd., 2009)
Üzüm kabuğu	Proantosiyantinler, elajik asit, mirisetin, kuersetin, kaempferol, resveratrol	(Pastrana vd., 2003; Hernandez-Jimenez vd., 2009)
Üzüm yaprağı	Mirisetin, elajik asit, kuersetin, kaempferol, gallik asit	(Pastrana vd., 2003)
Kırmızı şarap	Resveratrol, kateşin, kuersetin, hidroksisinnamik asit, malvinidin-3-glikozit, peonidin-3-glikozit, siyanidin-3-glikozit, petunidin-3-glikozit	(Riviero-Perez vd., 2008; Castaldo vd., 2019)
Hardaliye	Resveratrol, kateşin, epikateşin, kuersetin, gallik asit	(Amoutzopoulos vd., 2013)

d. Fenolik bileşiklerin biyolojik aktiviteleri

Fenolik bileşikler, insanların beslenmesinde en yaygın fitokimyasal maddelerdir. Çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip fenolik bileşenlerin en yaygın özellikleri antioksidan etkiye sahip olmalarıdır. Antioksidan aktivitenin yanı sıra antikanserojen, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, antidiyabetik, nöroprotektif ve antimikrobiyal aktivite de göstermektedirler. Yapılan çalışmalarda polifenollerin kardiyovasküler, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, tip 2 diyabet ve obezite gibi kronik hastalıkların önlenmesinde ve/veya tedavisinde potansiyel rolünün son derece önemli olduğu bildirilmiştir (Fraga vd., 2019; Xia vd., 2010).

i. Antioksidan aktivite

Biyolojik sistemler, çeşitli metabolik aktivitelerin yan ürünü olarak reaktif oksijen türleri (ROT) üretirler. Reaktif oksijen türleri (ROT), dış orbitallerde çift oluşturulmuş bir elektron içeren, kararsız, yüksek enerjili bir oksijen atomu ile karakterize edilir (14). ROT, esas olarak süperoksit radikallerinden (O_2^-), hidrojen

peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikallerinden (OH⁻) oluşur. Çevremizdeki ultraviyole ışınları, radyasyon, sigara dumanı, yaşlanma, patojenler ROT oluşumunu artıran faktörlerdir. Serbest radikaller, nükleik asitler, lipidler ve proteinler gibi hücre bileşenlerine doğrudan zarar vermektedir. Lipid peroksidasyonu hücre membran hasarına yol açarak hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. Ayrıca bir inflamatuvar yanıt ve doku hasarına da neden olurlar. ROT birikmesi hücre ve dokuların işlevinin bozulmasına, kanser, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olur. ROT'un etkilerini nötralize etmek için endojen ve eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. İnsan vücudu, serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı koymak için süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi enzimatik antioksidanlara sahiptir. Fenolik bileşikler, SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi diğer endojen antioksidan enzimleri düzenlerken, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz gibi ROT üretimine dahil olan belirli enzimleri inhibe ederler. Aynı zamanda askorbik asit (C vitamini) ve α -tokoferol (E vitamini) gibi eksojen antioksidanlara da ihtiyaç duyar (Panche vd., 2016; Saibabu vd., 2015).

Meyve ve sebzelerin fenolik bileşenleri ile antioksidan potansiyel arasında güçlü ve pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda fenolik bileşenlerin serbest radikalleri temizleyerek, lipid oksidasyonunu engelleyerek, hidrojen peroksit oluşumunu azaltarak antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Panche vd., 2016; Saibabu vd., 2015; Li vd., 2014).

ii. Antikanserojenik aktivite

Serbest radikaller oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, karsinogenezde önemli bir rol oynar. Hücrede DNA hasarına yol açar ve bu hasar tamir edilmeden bırakılırsa baz mutasyonuna, iplikte kırılmalara, DNA çapraz bağlanmasına ve kromozomal anormallığe yol açabilmektedir. Antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşiklerin, kanseri indükleyebilen oksidatif hasarı önlemede veya tedavi etmede faydalı olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, ayrıca bir dizi enzim ve hücre reseptörünün aktivitesini modüle ederek kanser dahil çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde de rol almaktadırlar (Li vd., 2014; Dai ve Mumper, 2010).

Bazı in vitro ve in vivo çalışmalar, flavonoidlerin sadece antioksidan aktivite ile değil, aynı zamanda diğer antikanser mekanizmalarıyla da karsinogenezin farklı aşamalarını kesintiye uğratabileceğini göstermektedir. Fenolik bileşikler,

karsinogenezin başlama ve ilerleme aşamalarındaki moleküler olayları etkileyebilir, izoflavonlar ve lignanlar, tümör oluşumuyla ilgili olan östrojenle ilişkili aktiviteleri etkileyebilir. Flavonoidlerin, hücresel proliferasyon, farklılaşma, apoptoz, inflamasyon, anjiyogenez, metastazın sinyal iletim yollarında yer alan anahtar enzimleri ve reseptörleri modüle ettiği bildirilmiştir (Panche vd., 2016; Ravishankar vd., 2013).

Programlanmış hücre ölümü, hücre çoğalması ve hücre kaybı arasında bir denge sağlamak için gereklidir. Bu dengenin yanlış düzenlenmesi kötü huylu dönüşüme yol açabilirken, apoptozun indüksiyonu kanser gelişimini baskılar. Resveratrol gibi bileşiklerin kötü huylu hücrelerde apoptozu indüklediği ve kanseri önlemek için umut verici bir doğal bileşen olduğu görülmüştür (Kyselova, 2011; Surh vd., 1999).

Kuersetin, keamferol ve mirisetinden sonra meyvelerde bulunan en fazla bulunan flavonoiddir ve antikanser araştırmalarındaki rolü birçok çalışmada vurgulanmıştır (Vuong vd., 2014; Kris-Etherton vd., 2002). Kuersetin, ROT (süperoksit) ve reaktif nitrojen türlerinin (nitrik oksit ve peroksinitrit) en güçlü temizleyicilerinden biri olarak bilinmektedir (Vuong vd., 2014). Jin ve ark. yapmış oldukları çalışmada, kuersetinin, benzo[a]piren kaynaklı DNA hasarı üzerinde önemli bir önleyici etkiye sahip olduğunu ve akciğer kanserinde benzo[a]pirenle indüklenen karsinogenez üzerinde potansiyel bir kemopreventif etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Sitokrom p4501A1 aktivitesinin inhibisyonu, kuersetinin bu etkilerinin olası mekanizması olabileceği bildirilmiştir (Jin vd., 2006).

Meyve ve sebzelerde bulunan bir tür fitoöstrojen olan kaempferolün kanser riskini azalttığı, apoptoz, anjiyogenez, inflamasyon ve metastaz ile ilişkili hücresel sinyal iletim yollarının ana unsurlarını düzenlediği ve ayrıca medulloblastom ve meme kanseri hücrelerinin göç ve invazyon yeteneğini inhibe ettiği bildirilmiştir (Chen ve Chen, 2013; Kim ve Choi, 2013). Bununla birlikte mirisetin, kateşin, epikateşin, epigallokateşin-3-gallat (EGCG), narigenin, kalkonlar, daidzein, gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, genistein, stilbenler ve antosiyaninler gibi diğer fenolik bileşikler de farklı kanser hücre dizilerin de antikanser mekanizmaları araştırılmıştır (Li vd., 2014; Vuong vd., 2014).

iii. Antiinflamatuvar aktivite

Bitkilerden elde edilen bileşikler üzerine yapılan araştırmalar, fenolik bileşiklerin diyabet, obezite, nörodejenerasyon, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıkların önlenmesinde ve ilerlemesinde faydalı bir rol oynayabileceğini göstermiştir (Li vd., 2014; Liu, 2003).

Fenolik bileşikler, immün sistem hücrelerine, proinflamatuvar sitokinlerin sentezine ve gen ekspresyonunu etkilemektedir. nükleer faktör kappa B'yi (Nuclear Factor Kappa B, NF- κ B) inaktive ederler ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (Mitogen activated protein kinase, MAPk) ve arşidonik asit yollarını modüle ederler. Toll benzeri reseptörü (Toll Like Reseptör, TLR) ve proinflamatuvar genlerin ekspresyonunu baskılayabilirler. Ayrıca, fosfolipaz A2, siklooksijenaz (Cyclooxygenase, COX) ve lipoksijenazı inhibe ederek prostaglandin ve lökotrienlerin üretiminde bir azalmaya yol açar (Bhaskar vd, 2016; Song vd., 2014).

Kırmızı şaraplık üzüm ve fındıkta bulunan resveratrolün kardiyoprotektif etkileri, esas olarak antiinflamatuvar özelliklerine bağlanmıştır. İn vivo ve in vitro çalışmalar, resveratrolün COX'i inhibe edebileceğini, peroksisom proliferatör aktive reseptör gamma'yı (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) inaktive edebileceğini, fare ve sıçan makrofajlarında endotelial nitrik oksit sentazı (eNOS) indükleyebileceğini göstermiştir (Li vd., 2014; Chuang ve McIntosh, 2011). Kafeik asit fenetil ester, makrofajlarda TLR4 aktivasyonunu ve lipopolisakkarit (LPS) aracılı NF- κ B'yi baskılamaktadır (Saibabu vd., 2015). Kuersetinin ayrıca insan polimorfonükleer lökositlerinde lökotrien biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (Yahfoufi vd., 2018).

Bazı flavonoidlerin sitokin üretimini etkileyerek de antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Çeşitli hücre dizilerinde Tümör Nekroz Faktörü- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α), İnterlökin-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β), IL-6, IL-8 ve monosit kemoatraktan protein-1 (Monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) gibi çeşitli pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonunu inhibe edebildikleri gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada kuersetin ve kateşinlerin TNF- α ve IL-1 β 'yi inhibe ederken IL-10 salınımını artırdığı bildirilmiştir (Yahfoufi vd., 2018).

iv. Kardiyoprotektif aktivite

Çay, kahve, kakao, zeytinyağı, kırmızı şarap gibi birçok gıdada bulunan fenolik bileşikler, kardiyovasküler hastalık riski üzerindeki etkilerini değerlendirilmek üzere kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır (Tangney ve Rasmussen, 2013). Çeşitli epidemiyolojik ve insan çalışmaları, meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşenlerin, immünmodülatör ve vazodilatör özelliklere sahip olduğunu ve bunun da kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaya katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Tangney ve Rasmussen, 2013; Rangel-Huerta vd., 2015; Tome-Carnerio ve Visioli, 2016).

Düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (Low Density Lipoprotein, LDL) oksidasyonu, aterosklerotik plakların oluşumuyla ilişkilidir ve bu da koroner kalp hastalığının gelişmesine yol açabilir. Yapılan çalışmalar fenolik bileşiklerin LDL oksidasyonunu inhibe edebileceği bildirilmiştir (Tuck ve Hayball, 2002). Kırmızı şarap, diğer alkollü içeceklere kıyasla koroner kalp hastalığı riskini azaltır, bu da kırmızı şarapta bulunan polifenollerin trombotik ve aterojenik süreçleri azaltmada olası bir rolüne işaret etmektedir (Lopez vd., 2003a). Başka bir çalışma, kırmızı şarap fenoliklerinin trombosit agregasyonunu inhibe edebileceğini ve insan LDL'sinin oksidasyonunu önleyebileceğini bildirmiştir. Esas olarak üzüm kabuğunda ve kırmızı şarapta bulunan resveratrolün, koroner kalp hastalarında endotel fonksiyonunu iyileştirerek kardiyoprotektif etkiler sağladığı gösterilmiştir (Lopez vd., 2003b).

v. Antidiyabetik aktivite

İnsülin salgısındaki ve insülin aktivitesindeki sorunlar, metabolik bir hastalık olan diabetes mellitus'un birincil nedenleridir. Amerikan Diyabet Derneği'ne göre, bu metabolik hastalık, kronik hiperglisemi ile karakterizedir ve göz, böbrek, sinir sistemi ve kalpte uzun vadeli hasara, işlev bozukluğuna ve yetmezliğe yol açmaktadır (American Diabetes Association, 2004). Pankreatik α -amilaz ve α -glukosidaz gibi enzimler diyetle alınan karbonhidratların (nişasta gibi) glukoza hidrolize edilmesinde ve bağırsakta Emilmesinde görevlidir (Apostolidis vd., 2006). Bu nedenle, bu enzimlerin inhibe edilmesi, nişasta parçalanmasını ve bağırsak glikoz Emilimini düzenleyerek tip-2 diyabetli hastalarda yemek sonrası hipergliseminin yönetilmesinde önemli bir yeri vardır (Kwon vd., 2008a). Ahududu, elma, kızılıçık, akçağaç şurubu özleri, buğday, karabuğday, mısır, yulaf, şarap, çay, karanfil, maş

fasulyesi, çilek, kırmızı kuş üzümü, siyah kuş üzümü, kırmızı ve yeşil bektaşı, adaçayı gibi farklı besin kaynaklarından elde edilen fenolik bileşikler, çeşitli in vitro çalışmalarda bu enzimlerin güçlü inhibitörleri olduğu kanıtlanmıştır (Apostolidis vd., 2006; Kwon vd., 2008a). Kwon ve ark., kateşinin % 99.6 ile en yüksek α -glukozidaz inhibitör aktivitesine sahip olduğunu ve bunu kafeik asit, rosmarinik asit, resveratrol, katekol, prokateşik asit ve kuersetinin takip ettiğini bildirmiştir (Kwon vd., 2006). Başka bir çalışmada naringenin, kaempferol, luteolin, apigenin, (+)-kateşin/(-)-epikateşin, diadzein ve EGCG'nin de etkili α -glukozidaz ve pankreatik amilaz inhibitörleri olduğu gözlenmiştir (Tadera vd., 2006).

vi. Nöroprotektif aktivite

Tüm nörodejeneratif hastalıklar, sitokin değişiklikleri, genetik değişiklikler, immünomodülasyon, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, prionlar ve protein disfonksiyonunu içeren ortak bir patogeneze sahiptir. Son araştırmalar, diyet polifenollerinin, kan-beyin bariyerini geçme yetenekleriyle nörolojik bozuklukların patolojik etkilerini azaltmayı ve/veya nötralize etmeyi hedeflediklerini göstermiştir (Saibabu vd., 2015; Bhullar ve Rupasinghe, 2013).

Parkinson hastalığı, inflamasyon ve oksidatif stresin eşlik ettiği, substantia nigradaki dopaminerjik nöronların kaybıyla sonuçlanan nörodejeneratif bir hastalıktır (Bhullar ve Rupasinghe, 2013; Pajares vd., 2020). Polifenoller, oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltma yetenekleriyle nörodejeneratif hastalıkta tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada resveratrolün hayvan modellerinde dopaminerjik nöron kaybını inhibe ettiği gösterilmiştir (Khan vd., 2010).

Fenolik bileşiklerin Alzheimer hastalığına karşı da nöroprotektif etkiler gösterdiği saptanmıştır (Okello vd., 2012). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, yeşil çay polifenollerinin Amiloid β ($A\beta$) peptidleri tarafından indüklenmiş sitotoksositeye karşı nöronları koruduğunu, üzümden elde edilen fenolik bileşiklerin tau proteinlerinin anormal katlanmasını nötralize edebildiğini ve anti- $A\beta$ etkisini de göstermiştir (Qin vd., 2012).

vii. Antimikrobiyal aktivite

Tıbbi bitkilerde, sebze ve meyvelerde bulunan fenolik bileşenlerin antimikrobiyal aktivitesi kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Bazı fenolik bileşikler

yüksek antimikrobiyal aktiviteler sergilemiş ve antibiyotiklerle sinerjik etki göstermiştir (Xia vd., 2010; Li vd., 2014).

(-)-gallokateşin-3-gallat, EGCG, (-)-kateşin-3-gallat ve (-)-epikateşin-3-gallat gibi bazı çay kateşinlerinin, *Bacillus cereus* gibi gıda kaynaklı bazı patojenik bakterilere karşı etkili olduğu saptanmış ve bu bileşiklerin gastrointestinal hastalıklara karşı antimikrobiyal etki gösterebileceğini düşündürmüştür (Friedman vd., 2006). Çay kateşinleri arasında yer alan EGCG'nin *H.pylori*, *Candida albicans*, *Influenza* virüs, *Adenovirüs* ve *Enterovirüs* enfeksiyonlarına karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiği gözlenmiştir (Yanagawa vd., 2003; Hirasawa ve Takada, 2004; Weber vd., 2003; Ho vd., 2009). Başka bir çalışmada gallik, kafeik ve ferulik asit gibi fenolik asitlerin, *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı gentamisin ve streptomisin gibi antibiyotiklere kıyasla daha etkili olabileceği bildirilmiştir (Saibabu vd., 2015; Xia vd., 2010; Li vd., 2014). Kuersetinle kombine edilmiş resveratrolün, bir pnömoni etkeni olan *Chlamydophyla pneumoniae* üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Alvesalo vd., 2006). Üzümlerde bulunan fenolik bileşenlerden resveratrolün ayrıca *E. coli*, *Listeria sp.*, *S. aureus*, *Campylobacter sp.* ve *Vibrio sp.* gibi gıda kaynaklı patojenlere anti bakteriyel etki gösterdiği de bildirilmiştir (Xia vd., 2010; Li vd., 2014).

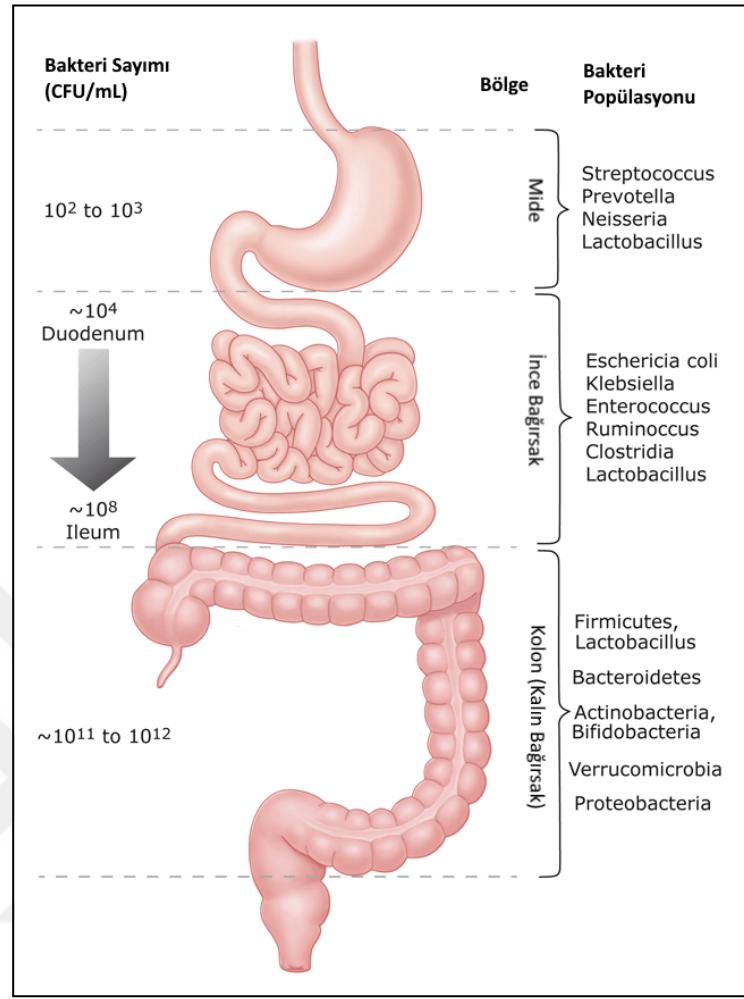
Fenolik bileşenlerin bazı mikroorganizmalara karşı antibiyotiklerle birlikte sinerjik etki gösterdikleri de bildirilmiştir (Daglia, 2012). Kore'de yeşil çaydan ekstrakte edilen EGCG'nin klinik metisiline dirençli *S.aureus* (Methicillin resistant *S.aureus*, MRSA) suşlarına karşı oksasiline birlikte sinerjik etki gösterdiği ve MİK değerlerinin 8-128 kat arasında azaldığı gösterilmiştir (Cho vd., 2008). Başka bir çalışmada kaempferol ve kuersetinin klinik MRSA suşlarında tek başlarına gösterdikleri β -laktamaz inhibisyonu zayıfken, rifampisinle birlikte gösterdikleri inhibitör etkinin oldukça güçlü olduğu saptanmıştır (Lin vd., 2008). Yapılan çalışmalar fenolik bileşenlerin çeşitli mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde artan mikrobiyal direnç karşısında yenilikçi bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmüştür.

B. Bağırsak mikrobiyotası

İnsan vücudu, mikrobiyota olarak adlandırılan ve çoğunlukla bakteriler olmak üzere mantar, virüs ve çeşitli ökaryotik hücrelerden oluşan bir topluluğu barındırmaktadır. Bu topluluğun sahip olduğu toplam genetik yapıya ise mikrobiyom adı verilmektedir (Hooper ve Gordon, 2001).

İnsan Genom Projesi'nin (Human Genom Project, HGP) tamamlanmasından sonra ABD'de 2007 yılında başlatılan İnsan Mikrobiyom Projesi (Human Microbiome Project, HMP) ile çeşitli anatomik bölgelerdeki (deri, üreme organları, solunum sistemi ve özellikle gastrointestinal sistemde) mikrobiyota ve mikrobiyom çeşitliliğini belirlemek ve bunların hastalık/sağlıktaki rollerini anlamak amaçlanmıştır (O'Hara ve Shanahan, 2006; Hattori, ve Taylor, 2009).

Gastrointestinal sistem, besin maddeleri içermeleri ve yaklaşık 400m²'lik geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle vücudumuzdaki en yoğun ve en çeşitli mikroorganizma topluluğuna sahiptir. İnsan bağırsak mikrobiyotası, başta bakteriler olmak üzere, arkeler, ökaryotik canlılar, virüsler ve parazit gibi birkaç yaşam türüiçeren geniş ve çeşitli bir topluluktur. Yaklaşık 10 ila 100 trilyon mikroorganizmadan oluşan insan bağırsak mikrobiyotasının, vücut hücrelerinden on kat fazla olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca bağırsak mikrobiyomu, insan genomundan yaklaşık 150 kat daha fazla gen içermektedir. Bağırsak mikrobiyomu, binlerce metabolit üreten 3 milyondan fazla geni kodlarken, insan genomu yaklaşık 23.000 genden oluşmaktadır. Mikroorganizmalar ile uyumlu ve dengeli bir yaşam sürdüren insan, "süperorganizma" olarak değerlendirilmektedir (Thursby ve Juge, 2017; Malard vd., 2021).



Şekil 6 İntestinal Mikrobiyotanın Dağılımı

Mikrobiyota bileşimi, gastrointestinal sistemin bölümleri arasında farklılık göstermektedir. Midede 10^2 - 10^3 cfu/ml, duodenum ve ileumda sırasıyla $\sim 10^4$ ve $\sim 10^8$ cfu/ml, kolonda ise 10^{11} - 10^{12} cfu/ml arasında bakteri bulunmaktadır (Şekil 6) (Vanderhoof ve Pauley-Hunter, 2015). Bakterilerin tanımlanmasında kullanılan kültüre dayalı teknikler oldukça ucuz, zahmetli ve zaman alıcıdır ve bugüne kadar bağırsak mikrobiyota üyelerinin % 30'undan daha azının kültüre edilmiş olması, gastrointestinal mikrobiyotanın çeşitliliği ve dinamikleri hakkında sınırlı bir görüş sağlamıştır. Hastalık durumlarıyla ilişkili farklı mikrobiyal topluluğun biyolojik öneminin ne olduğunu anlamak için "sağlıklı" bir bağırsak mikrobiyotası tanımlanmalıdır. Yeni nesil dizileme teknolojisindeki son gelişmeler sayesinde kültürlü yapılamayan mikroorganizmaların da belirlenmesi ile 1,000-1,150 yaygın bakteri türü olduğunu ve her bireyin en az 160 türü barındırdığı tespit edilmiştir (Qin

vd., 2010). Farklı bireylerden alınan bağırsak mikrobiyota örneklerinin 16S rRNA analizine dayanarak, bakteri türlerinin büyük çeşitliliğine rağmen çoğunluğun (tüm türlerin ~% 98'i) yalnızca beş bakteri filumuna ait olduğu gösterilmiştir: *Firmicutes* (~% 65), *Bacteroidetes* (~% 20), *Proteobacteria* (~% 8), *Actinobacteria* (~% 3) ve *Verrucomicrobia* (~%2) (Qin vd., 2010; Li vd., 2014; Eckburg vd., 2005). Geri kalan kısmı da diğer küçük taksonomik bölümlere aittir. *Firmicutes* filumu, 200'den fazla farklı Gram pozitif bakterilerden oluşan çok çeşitli bir gruptur. *Firmicutes* filumu, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ve bütirat üreten *Eubacterium*, *Faecalibacterium* ve *Roseburia* cinslerini içerir. En yaygın ikinci filum, kompleks glikanları parçalayan *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Xylanibacter* gibi cinslerinde yer aldığı yaklaşık 20 cinse ait Gram-negatif bakterilerden oluşan *Bacteroidetes*'dir. *Actinobacteria* filumu *Bifidobacterium spp.*, *Proteobacteria* filumu *Escherichia* ve *Desulfovibrio* cinslerini, *Verrucomicrobia* filumu ise esas olarak *Akkermansia* cinsini içermektedir (Qin vd., 2010; Sanchez-Tapia vd., 2019).

Mikrobiyota, immün homeostazın gelişimini ve sürdürülmesini güçlü bir şekilde etkiler, patojen istilasına karşı bir bariyer görevi görür ve konağın beslenmesine önemli katkılarda bulunur. Disbiyoz olarak adlandırılan mikrobiyal kompozisyondaki değişiklikler, bu karşılıklı ilişkileri yok edebilir ve insan sağlığını tehlikeye atarak konakçı fizyolojisini etkileyebilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, yaşam tarzının disbiyozu güçlü bir etkisi olduğunu göstermiştir. Kronik hastalıkların yetişkin nüfusun %50'sinden fazlasını etkilediği batı ülkelerinde, artan kırmızı et, hayvansal yağ, yüksek şeker ve düşük lifli gıda tüketimine dayalı diyet, antibiyotik kullanımı ve hareketsiz yaşam tarzı ile birlikte insan bağırsağının mikrobiyotasını şekillendirmede çok önemli bir rol oynamaktadır. Batı diyetinin disbiyozu indüklediği ve büyük olasılıkla bağırsak geçirgenliği ve bariyer fonksiyonundaki bozulmanın neden olduğu endotoksemiye katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bağırsak disbiyozu, İnflamatuar Bağırsak Hastalığı (Inflammatory Bowel Disease, IBD) gibi otoimmün ve/veya otoinflamatuvar bozukluklar, obezite, tip 2 diyabet gibi metabolik bozukluklar, alerjiler ve nörolojik bozukluklar dahil olmak üzere önemli hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (Schipa ve Conte, 2014).

1. Bağırsak Mikrobiyotasının Fonksiyonları

Bağırsak mikrobiyotası, bağırsak mukozası ile simbiyotik bir ilişki sürdürür. Besinini konakçının diyet bileşenlerinden sağlayan bağırsak mikrobiyotası, bir organ gibi davranarak sağlıklı bireylerde kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, intestinal bariyer bütünlüğünün korunması, immün sistem yanıtının düzenlenmesi gibi önemli metabolik, immünolojik ve bağırsak sağlığını koruyucu işlevler ile birlikte beyin fonksiyonlarımızı ve davranışlarımıza da katkı sağlar (Malard vd., 2021; Jandhyala vd., 2015).

a. Kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi

Bağırsak mikrobiyotası besinlerini büyük ölçüde diyetteki karbonhidratlardan alır. Sindirilemeyen karbonhidratların *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium*, *Enterobacteria* gibi bakteriler tarafından fermentasyonu ile konak için zengin bir enerji kaynağı olan asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) oluşur. Kolonositler tarafından absorbe edilen KZYA'leri sitrik asit döngüsüne girerler ve hücreler için enerji oluştururlar. Asetat, kolesterol ve yağ asidi sentezi için bir substrat görevi görürken, propiyonat ise karaciğerde glukoneogenezi indüklemektedir. Bütiratın ise antiinflamatuvar ve antikanserojen etkiler gösterdiği saptanmıştır. *Firmicutes* içerisinde *Lachnospiraceae* sınıfında *Eubacterium rectale*, *Roseburia spp.* türleri bütirat üretebildiği gösterilmiştir. Antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilen *Ruminococcaceae* sınıfına ait *Faecalibacterium prausnitzii* de bütirat üretiminden sorumludur (Sanchez-Tapia vd., 2019; Jandhyala vd., 2015).

b. İntestinal bariyer bütünlüğünü koruma

Bağırsak mikrobiyotası ve/veya mikrobiyal metabolitler hem epitel bariyer bütünlüğünü hem de bağışıklık sistemini etkileyebilmektedir. KZYA'leri intestinal bariyer bütünlüğünü korur ve intestinal inflamasyona karşı koruma sağlar. İntestinal bariyer, besinlerin emilimini kolaylaştıran, zararlı intralüminal maddelerin ve patojenlerin paraselüler geçişini engelleyen, hücreler arası bağlantılar yoluyla bağlanan, epitel hücrelerinden oluşan fiziksel bir bariyerdur. İntestinal permeabilite arttığında bakteriler ve/veya LPS gibi hücre duvarı bileşenlerin translokasyonu, obezite, insülin direnci veya santral sinir sistemi sorunları ile ilişkili inflamatuvar süreçleri tetikleyebilmektedir. Özellikle bütirat, sıkı bağlantı proteinlerinin en önemli düzenleyicisi olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda bütiratın klaudin-1 ve zonula

okludens-1 gibi proteinlerin ekspresyonunu artırarak intestinal bariyer fonksiyonunu koruduğu ve bakteriyel translokasyonu önlediği gözlenmiştir. Kolonda epitel hücrelerin üzerini örten mukus tabakası, biri iç tarafta immün sistem hücrelerinin yer aldığı yoğun bir tabaka, diğeri kommensal bakteriler tarafından kolonize edilmiş dış tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Mukus tabakası, goblet hücreleri tarafından üretilen spesifik O-bağılı glikanlarla karakterize karmaşık glikoprotein yapıdaki müsinlerden oluşur. Yapılan çalışmalarda bütiratın müsin ekspresyonunu artırarak intestinal bütünlüğü koruduğu bildirilmiştir (Jandhyala vd., 2015; Sommer ve Backhed, 2013; Antonini vd., 2019). Kolondaki mukus tabakası, hem bir besin kaynağıdır hem de müsin glikanları ile mikrobiyal adezyona ve çoğalmaya izin vermektedir. *Akkermansia muciniphila* enzimatik aktivitelerle müsin parçalamaktadır. Müsin parçalanması ile açığa çıkan karbonhidrat kaynakları ile mikrobiyotanın enerji ihtiyacı karşılanabilmektedir. Böylece uzun süreli açlık gibi durumlarda konağa avantaj sağlayabilmektedir (Zhai vd., 2019).

c. İmmün sistem yanıtının düzenlenmesi

İntestinal mukoza, bağışıklık sistemi ile dış çevre arasındaki esas arayüzdür ve bu nedenle konakçı-flora etkileşiminde önemli bir role sahiptir. Mikrobiyota, hem mukozal hem de sistemik bağışıklığı dengede tutmak için zararsız bakterilere tolerans ve patojenlere yeterli yanıtlar oluşturabilen düzenleyici mekanizmaları teşvik etmek için gereklidir. Bu mekanizmalar, mukus yapılarının varlığını, antimikrobiyal peptitlerin ve salgısal IgA (secretory IgA, sIgA) salgılanmasını içerir (Jandhyala vd., 2015; Sommer ve Backhed, 2013). Mukus tabakasının temel işlevi, bağırsak mukozası ile bağırsak lümeninde bulunan zararlı moleküller veya patojenler arasındaki etkileşimi sınırlamaktır. Bağırsak mikrobiyotasının yapısal bileşenleri ve metabolitleri, patern tanıma reseptörü (Pattern Recognition Receptors, PRR) aracılığıyla konak Paneth hücreleri tarafından katelisidinler, C-tipi lektinler ve (pro) defensinler gibi antimikrobiyal proteinlerin sentezini indüklediği gösterilmiştir. PRR'ler, peptidoglikan, LPS, lipid A, flagella ve bakteriyel RNA/DNA, mantar hücre duvarı β -glukanlar gibi çeşitli mikrobiyal bileşenleri içeren organizmaya özgü mikropla ilişkili moleküler modeller (Microbe associated molecular patterns, MAMPs) tarafından aktive edilir. PRR-MAMP ilişkisi, mukozal bariyer işlevini ve antimikrobiyal proteinlerin, müsin glikoproteinlerin ve IgA'nın üretimini teşvik etmek için gerekli olan çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu ile sonuçlanır. İntestinal

immün sistem, IgA antikorları üreterek patojenlere ve kommensal bakterilere yanıt verir. Laktik asit bakterilerinin ve diyet oligosakaritlerinin IgA tepkilerini artırdığı gösterilmiştir. Bu tür probiyotik bakteriler veya prebiyotik gıda bileşenleri enfeksiyon riskini azaltır ve IgA yanıtının yükselmesi, konakçı yanıtının artmasında rol oynayabilmektedir (Sommer ve Backhed, 2013; Yoo vd., 2020; Lazar vd., 2018).

d. Beyin fonksiyonlarının düzenlenmesi

Bağırsak mikrobiyotası, beyin bağırsak eksenini dediğimiz çift yönlü etkileşim sistemi sayesinde nöral, hormonal, immünolojik ve metabolik yollarla beyin ile iletişime geçerek beyin gelişimini ve fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. Beyinden gelen sinyaller de bağırsağın motilite, sekresyon gibi fizyolojik fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotası ve metabolitlerinde meydana gelen değişimlerin, artan intestinal permeabilitenin, nöroinflamasyonun Parkinson, Alzheimer, anksiyete, duygu durum bozuklukları ve otizm gibi hastalıkların patogeneğinde önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Dalile vd., 2019; Quigley, 2017).

2. Bağırsak Mikrobiyota Çeşitliliğini Etkileyen Faktörler

Sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesine çeşitli faktörler katkıda bulunur ve bu durum, bir bireyin hayatı boyunca devam eder. Doğum şekli, anne sütü ile beslenme, coğrafi farklılıkları, farklı yaşam tarzları ve beslenme modelleri, antibiyotik kullanımı, farklı diyet bileşenleri (probiyotik, prebiyotik, polifenol vb.) bağırsak mikrobiyotasının bireyler arasında farklılaşmasına yol açmaktadır (Malard vd., 2021; Rinninella vd., 2019).

a. Doğum şekli ve yenidoğan beslenmesi

Anne karnında gelişen fetüsün steril olup olmadığı tartışma konusu olmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda plasentada, amniyotik sıvıda ve mekonyumda mikroorganizmaların tespiti, insan gastrointestinal sistemi kolonizasyonunun doğum öncesinde başladığını düşündürmektedir. 16S rRNA dizileme çalışmaları, ilk mekonyumun *Escherichia*, *Shigella*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Streptococcus* gibi cinsler açısından zengin olduğunu ortaya koymuştur (Malard vd., 2021; Rinninella vd., 2019).

Doğum şekli, ilk mikrobiyota profilinin büyük ölçüde şekillenmesini sağlamaktadır. Vajinal yolla doğumda yenidoğan vajina ile temas ederken, sezaryende cilt florası ile temas etmektedir. Vajinal yolla doğan bebeklerin bağırsakları başlangıçta, en iyi *Lactobacillus* ve *Prevotella* cinslerinden organizmalar tarafından kolonize olurken, sezaryen ile dünyaya gelen bebeklerin bağırsakları çoğunlukla *Streptococcus*, *Corynebacterium* ve *Propionibacterium* gibi cilt florası elemanlarıyla kolonize olmaktadır (Rinninella vd., 2019; Zhuang vd., 2019; Duda-Chodak vd., 2015).

Doğum şeklinden sonra bağırsak mikrobiyotası üzerine en erken etki, anne sütü ve diğer beslenme şekilleri ile olmaktadır. Anne sütü, bebeğin beslenme ve fizyolojik taleplerini karşılamanın yanı sıra formül yemlerde bulunmayan birkaç biyoaktif bileşik içerir. Anne sütü oligosakkaritleri (Human Milk Oligosaccharides-HMO) olarak adlandırdığımız bu bileşikler, besin sindirimi ve emilimi, bağışıklığın korunması ve antimikrobiyal savunmada önemli bir role sahiptir. HMO'lar bebeğin kolonik bakterilerine besin sağlar, böylece *Bifidobacterium sp.* için seçici bir büyüme avantajı sağlar. Anne sütü ile beslenen bebeklerde *Bifidobacterium sp.* bağırsak florasına daha hakim iken, formül mama ile beslenen bebeklerde bağırsakda *Enterococcus*, *Enterobacteria*, *Bacteroides*, *Clostridia* ve diğer anaerop *Streptococcus* cinsleri baskındır. Yenidoğan bağırsak mikrobiyotası, doğum şekli, vajinal ve cilt mikrobiyotası, gebelik haftası, beslenme şekli, annenin antibiyotik kullanımı gibi faktörlerden dolayı değişiklik gösterebilmekte ve 3 yaşından itibaren erişkin bir bireyin mikrobiyotasına benzer hale gelmektedir (Sanchez-Tapia vd., 2019; Zhuang vd., 2019; Duda-Chodak vd., 2015).

b. Yaş

Mikrobiyota bileşimi, bir bireyin yaşamı boyunca stabil değildir. Yaşlı bireylerin tat ve koku alma duyusunun kaybolması, diş kaybı ve çiğneme güçlükleri veya kolesterol, şeker, tuz gibi belirli bileşenlerin diyetten çıkarılmasına neden olan bazı hastalıklar dahil olmak üzere pek çok nedenle diyetin değişmesi doğaldır. Yaşa bağlı mikrobiyota kompozisyon değişikliklerinin bazıları bu nedenle diyetten kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi, bağışıklık sisteminin işlevselliğinin azalması gibi bir dizi fizyolojik ve immünolojik faktör nedeniyle diyetten bağımsız olarak yaşlı kişilerde değişebilir. Yaşlı bireylerle ilişkili mikrobiyotanın, genç bireylere kıyasla *Escherichia* sayısı artarken *Ruminococcus* ve

Blautia spp. gibi birkaç bütirat üreticisinin bolluğunun azaldığı gözlenmiştir (Duda-Chodak vd., 2015, Jeffery ve O'Toole, 2013).

Firmicutes'in *Bacteroidetes*'e (F/B) oranı, insanın ömrü boyunca değiştiği bilinen parametrelerden biridir. Oran yaşamın ilk yılında daha düşük (0,4), yetişkinlikte artmakta (10.9), yaşlılıkta azalmaktadır (0.6). F/B oranının obezlerde zayıf insanlara göre daha yüksek olması dikkat çekicidir. Üstelik bu oran, düşük kalorili diyetle kilo verdikçe azalmaktadır. Yapılan çalışmalar yüksek kalorili diyetle birlikte artan F/B oranına sahip kişilerde, obeziteye yatkınlık olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, F/B oranı aynı zamanda bir obezite biyobelirteci olarak kabul edilebilir (Mariat vd., 2009; Ley vd., 2006).

c. Antibiyotik kullanımı

Antibiyotik kullanımının bağırsak mikrobiyotası üzerinde, tür çeşitliliğinin azalması ve antibiyotiğe dirençli organizmaların artması gibi çeşitli olumsuz etkileri olmaktadır. Çocuklarda antibiyotik tedavisini takiben mikrobiyal çeşitliliğin restorasyonunun yaklaşık 1 ay sürdüğü bildirilmiştir (Yassour vd., 2016). Yetişkinlerde, meropenem, gentamisin ve vankomisin kombinasyonunun uygulanması, *Enterobacteriaceae* prevalansında bir artışa, *Bifidobacterium* ve bütirat üreten türlerde bir azalmaya neden olmuştur. Bağırsak mikrobiyotasının temel bileşimi çoğunlukla 1.5 ay içinde restore edilirken, 180 gün sonra tekrar incelendiğinde birkaç yaygın türün tespit edilemediği gözlenmiştir (Palleja vd., 2018).

Antibiyotikler, normalde çeşitli bağırsak mikrobiyotası türleri arasında var olan dengeyi de bozabilir. Tür çeşitliliğinde bir azalmaya neden olan antibiyotikler, toksijenik *Clostridium difficile* gibi patojenlerin aşırı çoğalmasına ve tekrarlayan *C. difficile* enfeksiyonlarına yol açabilmektedir (Ramirez vd., 2020).

Bebeklik ve çocukluk döneminde antibiyotik kullanımı, yaşamın ilerleyen dönemlerinde obezite, astım, alerji ve IBD gibi çeşitli olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. Bebeklik döneminde antibiyotiklere maruz kalma, gecikmiş bağırsak mikrobiyotası gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. 2 yaşından küçük bebeklerde yapılan bir çalışmada, antibiyotik kullanımından sonra mikrobiyota gelişiminde gecikme olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, yaşamın ilk 2 yılında sık sık makrolid

kullanımı, astım ve obezite gelişmesiyle önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir (Ramirez vd., 2020; Turta ve Rautava, 2016).

d. Farklı beslenme modellerinin bağırsak mikrobiyotasına etkinliği

Diyet, bağırsak mikrobiyota çeşitliliği ve zenginliğini şekillendirmede en önemli rol oynayan faktörlerden biridir. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin %57'sinin diyetten kaynaklandığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda farklı toplumlarda yaşayan topluluklarda uzun dönem beslenme alışkanlıklarının, uygulanan kısa süreli diyet müdahalelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri değerlendirilmiştir (Sanchez-Tapia vd., 2019).

Farklı toplumlarda yaşayan kişilerin dahil edildiği çalışmalarda, uzun süreli farklı beslenme alışkanlıklarının bağırsak mikrobiyotası üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Mikrobiyota bileşiminde bireyler arası değişiklik olmasına rağmen, son çalışmalar, cins düzeyinde bağırsak mikrobiyotasının yapısında benzerlikler göstermiştir. Her biri bir cinsin baskınlığı ile karakterize edilen üç kümenin veya enterotipin varlığını ortaya çıkarılmıştır: *Bacteroides* (Enterotip 1), *Prevotella* (Enterotip 2) ve *Ruminococcus* (Enterotip 3) (Schipa ve Conte, 2014). Uzun vadeli beslenmenin enterotipi belirleyen faktörlerden biri olabileceği düşünülmüştür. DeFilippo ve ark., Batı tarzı beslenen Avrupalı çocuklar ile darı/sorgum açısından zengin bir diyet ve çok az lipid ve hayvansal protein içeren yerel sebzelerle beslenen Afrikalı Burkina Faso çocukları üzerinde yaptıkları bir araştırmada, Afrikalı çocukların bağırsak mikrobiyotalarında bakteri zenginliği ve çeşitliliğinin daha yüksek olduğunu, Avrupalı çocuklarda baskın gruplar *Firmicutes* ve *Proteobacteria* iken, Afrikalı çocuklarda *Prevotella*, *Xylanibacter* ve *Treponema* olduğunu saptamıştır (De Filippo vd., 2011). Bir başka çalışmada Hadza avcı toplayıcılar ile İtalyan toplumun bağırsak mikrobiyotaları karşılaştırılmıştır. Filum düzeyinde, Hadza bağırsak mikrobiyotası, İtalyan bağırsak mikrobiyotasında son derece nadir bulunan *Proteobacteria* ve *Spirochaetes* bakımından büyük ölçüde zenginken, İtalyan bağırsak mikrobiyotasının önemli bir bileşeni olan *Actinobacteria* ise neredeyse yoktur. Cins düzeyinde Hadza bağırsak mikrobiyotası *Prevotella*, *Eubacterium*, *Oscillibacter*, *Butyricicoccus*, *Sporobacter*, *Succinivibrio* ve *Treponema* bakımından zengin iken, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Blautia*, *Dorea*, *unclassified Lachnospiraceae*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, ve *unclassified Erysipelotrichaceae* oldukça azdır (Schnorr vd., 2014). Wu ve ark.

yapmış oldukları çalışmada, hayvansal yağ ve protein içerikli uzun süreli bir diyetle *Bacteroides* baskın iken, düşük yağ ve karbonhidrat içerikli bir diyetle *Prevotella*'nın baskın olduğu gözlenmiştir (Wu vd., 2011). Literatürdeki veriler incelendiğinde hayvansal protein ve yağ bakımından zengin diyetler, *Bacteroides* enterotipi ile ilişkilendirilirken, bitki karbonhidratlarının baskınlığı ile karakterize edilen diyetler *Prevotella* enterotipi ile ilişkilendirilmiştir.

Kısa süreli diyet müdahaleleri sırasında yalnızca sınırlı sayıda bakteri taksonu arasında önemli mikrobiyal değişiklikler kaydedilmiştir. İlk 24 saatlik dönemde bir diyet müdahalesine yanıt olarak bağırsak mikrobiyotasında hızlı ancak geçici değişiklikler söz konusu olduğu bildirilmiştir. Kısa süreli (10 günlük) uygulanan hayvansal içerikli diyet, safraya toleranslı mikroorganizmaların (*Alistipes*, *Bilophila* ve *Bacteroides*) seviyesini arttırmış ve bitki polisakkaritlerini metabolize eden Firmicutes (*Roseburia*, *Eubacterium rectale* ve *Ruminococcus bromii*) seviyelerini düşürmüştür. Bununla birlikte, kısa süreli diyet müdahalelerinde enterotiplerin (*Bacteroides*, *Prevotella* ve *Ruminococcus*) müdahale boyunca stabil kaldığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının diyetteki büyük değişikliklere hızla yanıt verebildiği, kısa süreli diyet müdahalesinin tür kompozisyonunu etkilediği ancak enterotip dağılımını etkilemediği gösterilmiştir (David vd., 2014).

e. Farklı diyet bileşenlerinin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi

i. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, bağırsak mikrobiyotasına etkileri açısından en iyi çalışılmış diyet bileşenleri olup sindirilebilen ve sindirilemeyenler olmak üzere iki çeşittir. Nişasta, glikoz, fruktoz, sukroz ve laktoz sindirilebilir karbonhidratlardır. Hurma meyveleri gibi yüksek miktarda glikoz, fruktoz ve sukroz ile beslenen kişilerde *Bacteroides*'de azalma, *Bifidobacteria*'nın nispi bolluğunda artış gözlenmiştir (Parvin, 2015; Eid vd., 2014).

Sakarin, aspartam gibi yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkileri araştırılmış, sakarinle beslenen farelerde *Bacteroides* miktarında artış, *Lactobacillus reuteri*'de azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar yapay tatlandırıcı türlerinin tüketilmesinin, saf glikoz ve sukroz tüketiminden daha fazla glikoz

intoleransına neden olduğu ve yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek bu etkiye aracılık ettiği düşünülmektedir (Singh vd., 2017).

Sindirilebilir karbonhidratların aksine, lif ve dirençli nişasta gibi sindirilemeyen karbonhidratlar ince bağırsakta enzimatik olarak parçalanmaz ve kalın bağırsağa giderler. Diyet lifi, mikroorganizmalar tarafından konağa enerji ve bir karbon kaynağı sağlamak için mikrobiyota tarafından erişilebilir bir karbonhidrat kaynağıdır ve bağırsak florasını değiştirebilirler. Prebiyotikler, faydalı bakterilerin çoğalmasını seçici olarak uyararak konak sağlığında olumlu etkilere yol açan sindirilemeyen gıda bileşikleridir. İnülin, Fruktooligosakkaritler (FOS), Galaktooligosakkaritler (GOS), Ksilooligosakkaritler en iyi bilinen prebiyotikler olup soya fasulyesi, muz, enginar, kuş konmaz, rafine edilmemiş buğday ve arpa, çiğ yulaf, keten tohumu gibi gıdalarda bulunurlar. Prebiyotikler, faydalı bakterilerin ve KZYA üretimini uyararak ve dolayısıyla intestinal bariyer işlevini iyileştirerek, mineral emilimini artırarak ve lipojenik enzimlerin baskılanmasıyla lipoprotein ve trigliseridlerin sentezini azaltarak konak sağlığını olumlu şekilde etkilemektedirler (de Vrese vd., 2008). Tam tahıl ve buğday kepeği açısından zengin sindirilemeyen karbonhidrat diyetlerinin, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerindeki artışla ilişkili olduğu gözlenmiştir (Costabile vd., 2008; Carvalho-Wells vd., 2010). Dirençli nişasta ve tam tahıllı arpa gibi diğer sindirilemeyen karbonhidratlar da *Ruminococcus*, *E. rectale* ve *Roseburia* miktarını artırdığı bildirilmiştir (Keim ve Martin, 2014). FOS, polidekstroz ve arabinoooligosakkarit gibi prebiyotiklerin *Enterococcus* ve *Clostridium* türlerini azalttığı saptanmıştır. Prebiyotikler, mikrobiyota modülasyonu üzerindeki etkilerine ek olarak metabolik ve bağışıklık belirteçlerinde de değişikliklere sebep olmaktadır (Singh vd., 2017; Costabile vd., 2012). Sindirilemeyen karbonhidratların tüketimi ile IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerde, insülin direncinde ve post prandiyal glukozda azalma görülmüştür (Kim vd., 2013). Başka bir çalışmada prebiyotik takviyesinin, bütirat üretimini artırarak HIV ile ilişkili disbiyozisi azalttığı gözlenmiştir (Serrano-Villar vd., 2017). Obez farelerde prebiyotik takviyesi, *Bifidobacterium sp.*'de seçici bir artışa sebep olmuş ve bu artışın, LPS gibi mikrobiyal kaynaklı inflamatuvar moleküllerin azalmış seviyeleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (De Vuyst ve Leroy, 2011).

ii. Proteinler

Diyet proteininin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri ilk olarak 1977'de tanımlanmıştır. Kültüre dayalı bir çalışma, etsiz diyetle beslenen kişilere kıyasla yüksek oranda et içeren diyetle beslenen kişilerde *Bifidobacterium adolescentis* sayısının azaldığını ve *Bacteroides* ve *Clostridia*'nın ise arttığını göstermiştir (Hentges vd., 1977). 16S rRNA dizilemesinin ilerlemeleriyle çeşitli çalışmalar, diyet proteininin bağırsak mikrobiyal bileşimi üzerindeki etkisini kapsamlı bir şekilde araştırabilmiştir. Peynir altı suyu proteini ve bezelye protein özütünün tüketiminin kommensal *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*'u artırdığı, ek olarak peynir altı suyu proteininin patojenik *Bacteroides fragilis* ve *Clostridium perfringens*'i azalttığı bildirilmiştir. Bezelye proteininin ayrıca antiinflamatuar etkisi olduğu düşünülen ve mukozal bariyerin korunması için önemli olan bağırsak KZYA düzeylerini artırdığı da gözlenmiştir. Bu çalışmaların aksine, hayvansal protein tüketimiyle *Bacteroides*, *Alistipes* ve *Bilophila* gibi safraya toleranslı anaerobların sayısının arttığı görülmüştür (David vd., 2014). Yapılan bazı çalışmalarda yüksek protein/düşük karbonhidrat içerikli bir diyetle beslenmenin *Roseburia* ve *Eubacterium rectale* türlerinde ve bütirat oranlarında azalma görülmüştür (Russell vd., 2011). İnflamatuar bağırsak hastalığına sahip kişilerde de sağlıklı kişilere oranla *Roseburia* ve diğer bütirat üreten bakterilerde azalma gözlenirken sağlıklı kişilerde 10 kat daha fazla *Eubacterium rectale* saptanmıştır (Kang vd., 2010; Machiels vd., 2014). Geniş katılımlı çalışmaların bulguları özellikle hayvansal protein tüketiminin IBD riskinin önemli ölçüde artmasında sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca kırmızı et tüketimiyle ilişkili birkaç mikrobiyal cins, kardiyovasküler hastalık riskini artıran proaterojenik bir bileşik olan Trimetilamin-N-oksit (TMAO) düzeylerinin artmasıyla da ilişkilendirilmiştir (De Filippis vd., 2015).

iii. Yağlar

Yüksek oranda doymuş ve trans yağ içeren diyetle beslenme, LDL'nin yükselmesine sebep olarak kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır. Tekli ve çoklu doymamış yağlar ise kronik hastalık riskini azaltabilmektedir. Batı tarzı beslenmede, hem doymuş hem de trans yağlar açısından yüksek iken, tekli ve çoklu doymamış yağlar ise düşüktür. Bu nedenle düzenli tüketiciler birçok sağlık sorununa yatkın hale gelmektedir (Singh vd., 2017).

İnsanlarda yapılan birçok çalışmada yüksek yağ içerikli bir diyetin toplam anaerobik florayı ve özellikle *Bacteroides* sayılarını arttırdığı gözlenmiştir (Wu vd., 2011). Düşük yağ içerikli bir diyetin, başlangıç düzeyine kıyasla açlık glikozu ve toplam kolesterolde eşzamanlı azalmayla birlikte *Bifidobacterium* bolluğunun artmasına yol açtığı bildirilmiştir. Öte yandan, yüksek doymuş yağ içerikli diyet, *Faecalibacterium prausnitzii*'nin nispi oranını artırmıştır (Fava vd., 2013). Yüksek yağ içerikli bir diyetle beslenen farelerde düşük miktarda *Lactobacillus intestinalis* ve propiyonat ve asetat üreten *Clostridiales*, *Bacteroides*, *Enterobacteriales*'de artış gözlenmiştir. Ayrıca yüksek yağlı diyet tüketen farelerde görülen mikrobiyal değişimlerin, metabolik endotoksemiden kaynaklanan inflamasyonu etkilediği gösterilmiştir (Lecomte vd., 2015). Başka bir çalışmada, domuz yağı ile beslenen farelerde *Bilophila* ve *Bacteroides*'in, balık yağı ile beslenen farelerde ise *Actinobacteria*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Akkermansia muciniphila*'nın arttığı gözlenmiştir. Ayrıca domuz yağı ile beslenen farelerde, balık yağı tüketen farelere kıyasla artmış sistemik TLR aktivasyonu ve bozulmuş insülin duyarlılığı saptanmıştır (Caesar vd., 2015).

iv. Probiyotikler

Probiyotikler, konakçı sağlığına yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. En sık tüketilen probiyotikler, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* ve mayalardır. Yapılan çalışmalar probiyotiklerin, intestinal bariyer fonksiyonunu güçlendirerek, immün sistemi uyararak, patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiği gösterilmiştir (Singh vd., 2017).

Bifidobacterium, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinsi probiyotiklerle beslenen sağlıklı bireylerde toplam aerob, anaerob, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus* konsantrasyonunda önemli artışlar bildirilmiştir. Koliform bakteriler ve *E.coli*'nin yanı sıra trigliserid, total kolesterol, LDL, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein, VLDL) ve yüksek hassasiyetli C-reaktif protein (high-sensitivity C-reactive protein, hsCRP) değerlerinde azalma gözlenmiştir. Probiyotik takviyesinden sonra HDL değerleri ve insülin duyarlılığı düzenlenmiştir. Başlangıçta düşük olan HDL, artmış insülin direnci ve yüksek hsCRP'ye sahip kişilerde, daha fazla *Escherichia coli* ve *Bacteroides*, daha az total *Lactobacilli* ve *Bifidobacteria*'ya sahip oldukları gözlenmiştir (Rajkumar vd., 2014).

Süt ürünleri ve yoğurt gibi laktik asit bakterileri içeren fermente gıdalar, bağırsak sağlığını düzenleyebilen probiyotiklerin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda probiyotik içeren yoğurt tüketiminin enteropatojen *E. coli* ve *Helicobacter pylori* sayılarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Liu vd., 2010).

v. Polifenoller

Çeşitli meyve ve sebzeler, çay, kakao ürünleri ve şarap, kateşinler, flavonoller, flavonlar, antosiyaninler, proantosiyanidinler ve fenolik asitler gibi zengin polifenol içeriğine sahiptir. Diyet polifenollerinin insan sağlığına olan etkisi, büyük ölçüde biyoyararlılıklarına, emilimine ve metabolize edilmesine bağlıdır. Toplam polifenol alımının sadece % 5 ila % 10'unun ince bağırsakta emildiği tahmin edilirken, % 90-95'i kolona ulaşır ve burada polifenoller yerleşik mikrobiyota tarafından daha biyoaktif metabolitlere dönüştürülür. Polifenolün spesifik kimyasal yapısına ve bağırsak mikrobiyotasındaki farklılıklara bağlı olarak metabolit üretiminde bireysel değişkenlik olabileceği bildirilmiştir (Cardona vd., 2013).

Polifenoller ve bağırsak mikrobiyotası arasında iki yönlü bir etkileşimin var olduğu kabul edilmektedir. Hem diyetten elde edilen hem de bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen fenolik bileşenler bağırsak mikrobiyota türlerindeki değişikliklerin modüle edilmesinde rol alır. Polifenollerin, yararlı bakterilerin sayısını ve patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal etkiyi arttıran prebiyotik özellik sergiledikleri gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar polifenollerin beslenme stratejileri oluşturulmasına faydalı olabileceğini düşündürmektedir (Cardona vd., 2013). Yapılan çalışmalarda fenolik bileşik açısından zengin olan elma, yeşil çay, kakao, kırmızı şarap gibi ürünlerin tüketiminde *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi probiyotik özellikte mikroorganizmaların, bütirat üretiminden sorumlu *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Roseburia spp.* gibi türlerin ve müsin üretiminden sorumlu *Akkermansia muciniphila*'nın sayısı artarken patojenlerde ise azalma olduğu bildirilmiştir (Cardona vd., 2013; Dudo-Chodak vd., 2015; Singh vd., 2017). Ayrıca obezite ve diyabet gibi hastalığı olan disbiyozise sahip kişilerde polifenol tüketiminin artmış F/B oranlarında azalmaya sebep olduğu gözlenmiş ve bu durum metabolik aktivitelere de yansımıştır (Dudo-Chodak vd., 2015).

C. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin bağırsak mikrobiyotasına etkinliği

Üzüm, fenolik bileşenler açısından en zengin meyveler arasında yer almaktadır. Üzüm tanesinin kabuğu, etli sulu kısmı, çekirdeği gibi farklı kısımlarında dağılım gösterirler. Üzüm suyunda bulunan fenolik bileşenler, esas olarak üzüm kabuğu ve çekirdeklerinden, daha az oranda da etli sulu kısımlardan kaynaklanmaktadır. Üzümün cinsi, yetiştiği toprak, coğrafi konum, iklim koşulları, hasat zamanı vb. faktörler fenolik bileşen kompozisyonunu ve miktarını etkileyebilmektedir. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin, sahip oldukları antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikanser aktivitelerinin yanı sıra yapılan çalışmalarla bu ürünlerin prebiyotik benzeri etki göstererek bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu etkilediği de gösterilmiştir (Rienth vd., 2021; Cardona vd., 2013; Xia vd., 2010).

1. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin mikrobiyota ile ilişkisine yönelik in vitro çalışmalar

Çeşitli araştırmacılar, bağırsak bakterileri tarafından metabolize edilen polifenollerin ve/veya metabolitlerinin bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için in vitro modellerden yararlanmışlardır. Cueva ve ark.ları üzüm çekirdek ekstraktı olan flavan-3-ol'un bağırsak mikrobiyotasına etkisini araştırmak için ekstraktların insan fekal örnekleri ile in vitro fermentasyonunu gerçekleştirerek fermentasyon süresince *Lactobacillus/Enterococcus*'un çoğaldığını ve *Clostridium histolyticum* grubunun azaldığını gözlemlemişlerdir (Cueva vd., 2013). Başka bir in vitro çalışmada, aynı yöntemle flavanol monomerleri olan kateşin ve epikateşinin fekal örneklerle inkübasyonu gerçekleştirilmiş ve kateşin ile inkübasyon sonucunda *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* grup, *Bifidobacterium spp.* ve *Escherichia coli* türlerinin çoğalmasında anlamlı bir artış saptanırken, *C. histolyticum* grup için önemli bir inhibitör etki görülmüştür. Epikateşin sayesinde ise sadece *C. coccoides-Eubacterium rectale* grubunda önemli bir artış gözlenmiştir. Bu veriler doğrultusunda flavanol bakımından zengin besinlerle beslenmenin prebiyotik etki göstererek bağırsak sağlığını olumlu yönde etkilediklerini bildirmiştir (Tzounis vd., 2008).

2. Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin mikrobiyota ile ilişkisine yönelik in vivo ve klinik çalışmalar

Hayvan modellerinde yapılan çalışmada ise, kırmızı şarap polifenolleri ile beslenen ratlarda *Clostridium spp.* türlerinde azalma, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus spp.* türlerinde ise artış tespit edilirken, sistemik inflamasyon belirteçlerinde de (IL-6 gibi) azalma gözlenmiştir (Dolara vd., 2005). Başka bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen farelere üzüm polifenolleri verildiğinde *Alistipes* ve *Akkermansia muciniphila*'da artış, *Clostridiales* takımında ve F/B oranında azalma görülmüştür. Bununla birlikte aynı çalışmada IL-6, TNF- α gibi inflamatuvar belirteçlerde azalma, instinal bariyer bütünlüğünün korunmasında rolü olan okludin ekspresyonlarında artış gözlenmiştir. 10 hafta boyunca diyetle birlikte verilen kuersetin ve resveratrol ile obez ratlarda *Firmicutes*, F/B oranlarında ve kiloda, yağ dokusunda, serum lipidlerinde ve inflamatuvar belirteçlerde (IL-6, TNF- α) azalma olduğu bildirilmiştir (Zhao vd., 2017).

Birçok in vitro ve hayvan modellerinde yapılan çalışma, şarap ve üzüm ekstraktından elde edilen polifenollerin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkileyebileceğini göstermesine rağmen, insan çalışmaları oldukça sınırlıdır. Yamakoshi ve diğerlerinin yapmış oldukları çalışmada üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidinden zengin ekstraktları 14 gün boyunca 0.5 g/gün sağlıklı bireylere verilip fekal mikrobiyota incelendiğinde plak sayım metodu ile başlangıca kıyasla *Enterobacteriaceae* türlerinde azalma, *Bifidobacterium spp.* sayılarında anlamlı bir artış ($p<0.005$) gözlenmiştir (Yamakoshi vd., 2001). Queipo-Ortuno ve ark.larının yapmış olduğu çalışmada, kırmızı şarap tüketiminden sonra (272 mL/gün, 20 gün, 8 gönüllü), filum düzeyinde *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* popülasyonları; cins seviyesinde *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides* ve *Bifidobacterium*; ve *Blautia coccoides*-*Eubacterium rectale* grubu ve *B. uniformis* ve *Eggerthella spp.* grubunda artış gözlenmiştir (Queipo-Ortuno vd., 2012). Yine başka bir diğer çalışmada düzenli olarak kırmızı şarap tüketiminin fekal mikrobiyal çeşitliliğinin artışı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Barroso vd, 2016). Disbiyotik olan obez bireylerde yapılan bir çalışmada ise 30 gün boyunca günde 272ml/gün dealkolize kırmızı şarap tüketen kişilerde *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında azalma, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Roseburia* ve *Faecalibacterium prausnitzii* türlerinde artış olduğu gözlenmiştir (Moreno-Indias vd., 2016).



III. GEREÇ ve YÖNTEM

A. Çalışma Alanı

Bu tez çalışması Eylül 2019 – Şubat 2020 tarihleri arasında yürütülerek randomize kontrollü bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Bu araştırma, kontrol grubunda 15 kişi, çalışma grubunda 15 kişi olmak üzere toplam 30 sağlıklı gönüllü ile yürütülmüş ve çalışmada bu gönüllülerden elde edilen toplamda 105 gaita örneği yer almıştır.

Araştırmanın deneysel aşamaları, İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Eğitim ve Araştırma Laboratuvarlarında ve kütüphane hazırlık hizmeti alınarak gerçekleştirilmiş olup çalışma, İstanbul Aydın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2019/11 numaralı kararla desteklenmiştir. Araştırmanın protokolü İstanbul Aydın Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2019/02 sayılı kararla onaylanmıştır (EK 1).

B. Çalışmanın Genel Planı

Çalışma aşağıdaki plan doğrultusunda yürütülmüştür.

1. Çalışmaya katılan tüm gönüllülerden araştırma öncesinde 1. gaita örnekleri alınmıştır.

2. Gönüllüler çalışma süresince sabahları; 60 gram peynir, 5 tuzsuz zeytin, 1 yumurta, 2 ince dilim ekmek, 2 tam ceviz içi, ara öğünde 1 su bardağı süt, öğle yemeğinde; 8 yemek kaşığı sebze yemeği, 2 kepçe çorba veya 2 ince dilim ekmek, az salata), akşam yemeğinde; 3 gün öğle öğünü ile aynı, 4 gün ise yağsız tavuk göğsü/1 iri balık/100 gr yağsız et, az salata, 2 kepçe çorba veya 2 ince dilim ekmek ve ara öğünlerde; 1 su bardağı leblebi/2-3 meyve/1 fincan fındık badem tüketerek sağlıklı beslenme planı uygulamıştır (Çizelge 3) (EK 2).

3. Kontrol ve çalışma grubunda yer alan gönüllülerden diyetle başladıktan 15 gün sonra, 2. gaita örnekleri, 15 gün daha aynı diyetle devam ederek 3. gaita örnekleri alınmıştır.

4. Çalışma grubunda yer alan gönüllüler aynı diyetle devam ederek 20 gün boyunca haftanın 3 günü 250 ml/gün hardaliye tüketmiş, 20. günün sonunda 4. gaita örnekleri alınmıştır (Queipo-Ortuno vd., 2012).

5. Çalışma; kontrol grubunda yer alan her gönüllüden 3'er adet olmak üzere toplam 45 gaita örneği, çalışma grubunda yer alan her gönüllüden 4'er adet olmak üzere toplam 60 gaita örneği alınarak toplamda 105 gaita örneği ile yürütülmüştür.

6. Toplanan gaita örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır.

7. Elde edilen DNA örneklerinden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile 16S rRNA V3-V4 gen bölgeleri çoğaltılmıştır.

8. PZR sonrası Yüksek Çözünürlüklü Erime (High Resolution Melting-HRM) analizi yapılarak mevcut bakteri türleri, 16S rRNA hedefli yeni nesil dizileme ile belirlenmiştir.

Çizelge 3 Sağlıklı Beslenme Planı Örneği

Öğün	Yiyecek
Sabah	60 gram peynir, 5 tuzsuz zeytin, 1 yumurta, 2 ince dilim ekmek, 2 tam ceviz içi
Ara	1 su bardağı süt
Öğlen	8 yemek kaşığı sebze yemeği, 2 kepçe çorba veya 2 ince dilim ekmek, az salata
Ara	1 su bardağı leblebi/2-3 meyve/1 fincan fındık badem
Akşam	3 gün öğle öğünü ile aynı, 4 gün ise yağsız tavuk göğüs/1 iri balık/100 gr yağsız et, az salata, 2 kepçe çorba veya 2 ince dilim ekmek

C. Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri

Çalışmamızda İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında gönüllü kişilerin seçiminde kullanılan kriterler referans alınarak çalışmaya alınan gönüllülerin araştırmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibi belirlenmiştir (McInnes ve Cutting, 2010).

- 18-45 yaş arasında olmak,

- Vücut kitle indeksi (VKİ) ≥ 18 ve VKİ ≤ 35 olmak,
- Son 6 ay içinde aşağıdaki ilaç ve ürünlerden herhangi birini kullanmamış olmak:
 - o intravenöz, intramüsküler veya oral sistemik antibiyotik, antifungal, antiviral veya antiparaziter ajanlar,
 - o intravenöz, intramüsküler, oral, nazal veya inhale kortikosteroidler,
 - o sitokinler,
 - o metotreksat veya immünosüpresif sitotoksik ajanlar,
 - o probiyotiklerin yüksek dozlarını içeren (günde $\geq 10^8$ cfu) ürünler
 - o fermente içecek/süt, yoğurt, gıdalar
- Çalışmaya katılım sırasında ve çalışma süresince akut ateşli veya ateşsiz bir hastalık geçirmemek,
- Kronik hastalığı olmamak,
- Son 5 yıl içerisinde gastrointestinal sistem ameliyatı geçirmemiş olmak,
- Aşağıdaki gastrointestinal sistem ilişkili hastalık tanılarını almamış olmak:
 - o ülseratif koliti (hafif-orta-şiddetli) içeren inflamatuvar bağırsak hastalığı, Crohn hastalığı (hafif-orta-şiddetli) veya sebebi belirsiz kolit;
 - o irritabl bağırsak sendromu (Irritable Bowel Syndrome, IBS);
 - o persistan enfeksiyöz gastroenterit, kolit veya gastrit, etyolojisi bilinmeyen kronik diyare, tekrarlayan *Clostridium difficile* enfeksiyonu ve tedavi edilmemiş *Helicobacter pylori* enfeksiyonu;
 - o kronik kabızlık

D. Gaita örneklerinin laboratuvara ulaştırılması ve saklanması

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan gönüllülerden steril kaplarda toplanan gaita örnekleri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de taşınarak laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnekler kontrol ve çalışma grubu olarak sınıflandırılmış ve numaralandırılarak kayıt altına alınmıştır. Tüm örnekler uygun kaplarda deneyler yapılincaya kadar -80°C 'de saklanmıştır.

E. Laboratuvarında Yürütülen Moleküler Çalışmalar

1. Gaita örneklerinden DNA izolasyonu

Toplanan gaita örneklerinden Dışkı DNA ekstraksiyon kiti (Bioeksen Ar-Ge Teknolojileri, Türkiye) kullanılarak DNA izolasyonu üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

1) 200 mg dışkı numuneleri, içerisinde 0,1 mm çaplı cam boncuk ve 300 µL tampon (200 mM Tris-HCl, pH 8.0; 20 mM EDTA; 10% Triton X-100) bulunan tüplere transfer edilerek 1 dk 6m/s hızda homojenize edilmiştir.

2) Yeni bir tüpe transfer edilen numunenin üzerine 10 µl Lizozim (200 µg/µl) eklenmiş ve 37 °C’de 15 dk. inkübe edilmiştir.

3) Örneğe daha sonra 250 µl parçalama tamponu (0,5 µg/µl Proteinaz K, %5 Tween® 20, 3M Guanidinium thiocyanate, 20 mM Tris-HCl, pH 8.0) eklenmiş, 70 °C’de 15 dk ve daha sonra 95 °C’de 5 dk inkübe edilmiştir.

4) Ardından örneğe 250 µl izopropanol eklenmiş ve santrifüjle silika kolonlardan geçirilmiştir.

5) Silika kolona bağlı DNA’lar yıkama tamponu (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl pH 7,5, %80 v/v Etanol) ile iki defa yıkanmıştır.

6) DNA elüsyonu 50µl 100mM Tris-HCl, pH 8,0 ile gerçekleştirilmiştir.

2. DNA miktarının ölçümü ve kalite kontrolü

Gaita numunelerinden elde edilen DNA örneklerinin miktarı ve kalitesi, spektrofotometrik yöntemlerle 260 nm ve 280nm’deki absorbans değerleri ölçülerek test edilmiştir. Elde edilen DNA’lardan 1’er µl alınarak NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazında ölçülmüş, A260/A280 oranı 1,5-2.0 arasında ve son konsantasyonu 10 ng/ul olan DNA’lar mikrobiyota analizleri yapılana kadar -20°C’de saklanmıştır.

3. Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi (High Resolution Melting Analysis, HRMA)

HRM öncesi 16S rRNA V3-V4 gen bölgelerinin çoğaltımı Bact 342F (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') ve Bact534R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') primer çifti kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yapılmıştır (Çizelge 4). PZR’de reaksiyon karışımı toplam 20µl olmak üzere, 10 µl Biospeedy HRM

Master Mix (2X), 6,5µl dH₂O, 2 µl kalıp DNA (10ng/µl) ve her primerden 0,75 µl alınarak hazırlanmıştır (Çizelge 5). PZR 1 döngü 95°C’de 3 dakika başlangıç denatürasyonu; 40 döngü 95°C’de 20 saniye bağlanma, 53°C’de 20 saniye uzama ve 72°C’de 60 saniye son uzama aşamaları ile HRM analiz özelliğine sahip CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Fransa) Gerçek Zamanlı PZR cihazında gerçekleştirilmiştir. PZR sonrasında yapılan standart HRM analizi 1’er döngü 95°C’de 1dk, 55°C’de 1dk olmak üzere uygulandıktan sonra sıcaklık 65°C’den 95°C’ye 0.2°C/sn hızla çıkartılmış, bu sırada sürekli floresan okuma alınarak okumalar kaydedilmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 4 Bact342F ve Bact534R primer dizileri

Primer	Primer dizisi
Bact342F	5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'
Bact534R	5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'

Çizelge 5 HRM analizinde kullanılan mix içeriği

İçerik	Miktar
Biospeedy® HRM Master Mix (2X)	10ul
dH ₂ O	6,5 ul
Kalıp DNA (10ng/ul)	2 ul
Forward Primer 2.5 pmol/ul	0.75 ul
Reverse Primer 2.5 pmol/ul	0.75 ul
Toplam	20 ul

Çizelge 6 PZR koşulları

Aşamalar	Koşullar	Döngü Sayısı	Program adı
Denatürasyon	95°C’de 3 dakika	1 döngü	Başlangıç denatürasyonu
Bağlanma	95°C’de 20 saniye		
Uzama	53°C’de 20 saniye	40 döngü	PZR amplifikasyonu
Son uzama	72°C’de 60 saniye		
	95°C’de 1 dk.	1 döngü	
	55°C’de 1 dk.	1 döngü	
	65 →95 °C’(0.2 °C artışlarla)	1 döngü (sürekli floresan okuma alınır)	HRM Analizi

Elde edilen sıcaklık-floresan şiddeti ham verileri, Reja vd. tarafından (Reja vd., 2010) tanımlanan istatistiksel yaklaşımı temel alan Biospeedy® HRM Analiz Yazılımı (Bioeksen Ar Ge Teknolojileri, Türkiye) kullanılarak analiz edilmiştir. HRM yazılımı, sıcaklık-floresan şiddeti ham verilerini sıcaklık - % floresan değişimi olacak şekilde normalize etmiş, elde edilen normalize erime eğrisi profilleri Minitab 17 (Minitab, ABD) yazılımı kullanılarak birbirleriyle karşılaştırılmış ve dendrogramlar oluşturulmuştur. Çok boyutlu verinin komponentlerine ayrılarak benzerlik oranlarının tespit edilmesi amacıyla Principal Component Analysis (PCA) ordinasyonlarının hesaplanması için Minitab 17 (Minitab, ABD) yazılımı kullanılmıştır. Dendrogramlardaki %95 ve üzeri benzerlik oranına göre numuneler gruplara ayrılmış, %95 ve üzeri benzerlik seviyesindeki örnekler birlikte analiz edilmek üzere 50’şer ng alınıp birleştirilerek, örnekler 16S rRNA mikrobiyota analizleri için hazır hale getirilmiştir.

4. 16S rRNA Amplikon Kütüphane Hazırlık ve Dizilenmesi

1. Elde edilen DNA örneklerinden 16S rRNA geni V3-V4 değişken bölgesi, bakteriye özgü universal Bact341F (5’-CCTACGGGNGGCWGCAG-3’) ve Bact805R (5’-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3’) primer çifti ile hedeflenmiştir (Çizelge 7) (Klindworth vd., 2013). Spesifik primer çiftlerinin 5’ ucuna, Illumina

indeks ve sekans adaptörleri ile uyumlu olan, konnektör DNA dizileri eklenmiştir. 16S rRNA'ya özgü hedef spesifik primer-konnektör sekansları, forward primer için 5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' ve reverse primer için 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3' şeklindedir.

Çizelge 7 Bact341F ve Bact805R primer dizileri

Primer	Primer dizisi
Bact 341F	5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'
Bact 805R	5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'

2. İlk PZR'de reaksiyon karışımı toplam 25µl olmak üzere, 12,5 µl KAPA HiFi HotStart Ready Mix (2X), 2,5µl kalıp DNA (5ng/µl), her primerden 5µl alınarak hazırlanmıştır (Çizelge 8). Hazırlanan mix kullanılarak PZR, 1 döngü 95°C'de 3 dakika; 25 döngü 95°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 30 saniye ve 72°C'de 5 dakika olmak üzere gerçekleştirilmiştir (Çizelge 9).

Çizelge 8 PZR reaksiyon mix

İçerik	Miktar
KAPA HiFi HotStart Ready Mix (2X)	12,5ul
Kalıp DNA (5ng/ul)	2,5 ul
Forward Primer 2.5 pmol/ul	5 ul
Reverse Primer 2.5 pmol/ul	5 ul
Toplam	25 ul

Çizelge 9 PZR koşulları

Aşamalar	Koşullar	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C’de 3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	95°C’de 30 saniye	25 döngü
Bağlanma	55°C’de 30 saniye	25 döngü
Uzama	72°C’de 30 saniye	25 döngü
Son uzama	72°C’de 5 dk.	

3. Elde edilen PZR ürünleri agaroz jel ile 100bp’lik DNA marker kullanılarak yürütülmüş ve boyutu incelenmiştir (~550bp).

4. PZR ürünleri AMPure XP (Beckman Coulter, ABD) manyetik boncukları kullanılarak saflaştırılmıştır.

5. Saflaştırılmış ilk PZR örneğine ikinci PZR basamağı ile Nextera XT Index Kitinde (Illumina, ABD) yer alan primerler kullanılarak ikili indeks ve Illumina sekanslama adaptörleri eklenmiş (Çizelge 10) ve PZR 95°C’de 3 dakika, 8 döngü 95°C’de 30 saniye, 55°C’de 30 saniye ve 72°C’de 30 saniye; 72°C’de 5 dakika olmak üzere gerçekleştirilmiştir (Çizelge 11).

Çizelge 10 PZR reaksiyon mix

İçerik	Miktar
DNA	5 µl
Nextera XT Index Primer 1 (N7xx)	5 µl
Nextera XT Index Primer 2 (S5xx)	5 µl
KAPA HiFi HotStart Ready Mix (2X)	25 µl
PZR Grade Su	10 µl
Toplam	50 µl

Çizelge 11 PZR koşulları

Aşamalar	Koşullar	Döngü Sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95°C’de 3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	95°C’de 30 saniye	8 döngü
Bağlanma	55°C’de 30 saniye	8 döngü
Uzama	72°C’de 30 saniye	8 döngü
Son uzama	72°C’de 5 dk.	

6. Amplifikasyon sonrası PZR ürünleri agaroz jelde 100 bp’lik DNA marker ile birlikte yürütülerek amplifikasyon kontrol edilmiş (~630bp), her örneğe ait ürünlerin konsantrasyonları dsDNA HS Assay kit ile Qubit cihazında (Thermo Fisher, İngiltere) ölçülmüş ve ekimolar miktarda karıştırılmıştır.

7. Birleştirilen ampikonlar kit içeriğindeki AMPure XP (Beckman Coulter, ABD) manyetik boncukları kullanılarak saflaştırılmıştır.

8. Son kütüphane 10 mM Tris pH 8.5 kullanılarak 4 nM’e seyreltilmiş ve 5 µl’lik alikotlar halinde kütüphane havuzu oluşturmak üzere karıştırılmıştır. Küme oluşturma ve sekanslama hazırlığı için havuzlanan kütüphaneler, NaOH ile denatüre edilmiş, hibridizasyon tamponu (HT1) ile seyreltilip MiSeq sekanslamasından önce sıcaklık ile denatüre edilmiştir.

9. Yürütmelerde Illumina MiSeq v3 reaksiyon kitleri (Illumina, ABD) kullanılmıştır. Her bir reaksiyona dahili kontrol olarak minimum %5 PhiX eklenmiştir.

10. Yeni nesil DNA dizileme (Next Generation Sequencing - NGS), MiSeq (Illumina, ABD) cihazında 2x300 bp pair-end (çift uçlu) dizileme aşamaları takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

5. Biyoinformatik Analiz Basamakları

Dizileme sonrasında elde edilen ham verinin kalite kontrolü FASTQC (Babraham Bioinformatics, İngiltere) programında gerçekleştirilmiştir. Q skoru (Quality score, Q score) 20’den düşük olan diziler çıkartılmıştır. 16S rRNA ampikon verisi, QIIME2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) yazılım paketi

(v2020.2) kullanılarak analiz edilmiştir. İlk olarak PZR aşamasında kullanılan primer dizileri cutadapt (cutadapt trim-paired) eklentisi ile kesilerek dizilerden çıkarılmıştır. Daha sonra vsearch eklentisi (vsearch join-pairs) ile ileri ve geri diziler birleştirilmiştir. Elde edilen birleştirilmiş fragman dizileri Deblur programı kullanılarak (deblur denoise-16S) ‘denoising’ uygulanmıştır. Kimerik fragmanlar da bu aşamada filtrelenmiş olup, sonucunda ASV (Amplicon sequence variants) dizileri elde edilmiştir. Aynı zamanda her dizinin tüm örnekler arasındaki okunma miktarları da ortaya çıkarılmış olup, her dizinin taksonomik sınıflandırması classify-sklearn eklentisi (feature-classifier classify-sklearn) ile SILVA (Release 132) veri tabanı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her taksonomik birimdeki yüzde okuma oranları hesaplanmış, her örnek bakteriyel mikrobiyota içeriği böylece ortaya çıkarılmıştır.

F. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmaya alınacak gönüllü sayısı istatistiksel güç analizi yapılarak belirlenmiştir. Yapılan güç (power) analizinde $\alpha=0,05$ olarak alınmış ve örneklem sayısının büyüklüğü %82,43 olarak hesaplanmış olup, çalışma ve kontrol grubuna 15’er kişinin alınması uygun görülmüştür. Çalışma sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizinde SPSS 26.0 programı kullanılmıştır. Analiz öncesinde verilerin normal dağılımı Shapiro Wilks testi ile kontrol edilmiştir. Medyan ve minimum-maksimum değerler kullanılarak tanımlayıcı analizler, frekans (sıklık) ve yüzdeler kullanılarak nominal değişkenler hesaplanmıştır. Tekrarlı ölçümlerde parametrik olmayan veriler için üçlü gruplarda Friedman testi, ikili gruplarda ise Wilcoxon testi uygulanmıştır. Veriler %95 güven aralığında olup, anlamlılık seviyesi $p<0,05$ olarak alınmıştır. Kıyaslanan gruplarda $p<0,05$ saptanan taksonlar içerisinde grup ortalaması %1’in altında olan taksonlar değerlendirmeye alınmamıştır.

IV. BULGULAR

A. Gönüllülerin demografik özellikleri

Çalışmamızda Eylül 2019 – Şubat 2020 tarihleri arasında çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan 30 kişi araştırmaya kabul edilmiş, 15 kişi çalışma ve 15 kişi kontrol grubu olmak üzere iki grupta gaita örnekleri toplanmıştır. Çalışma ve kontrol gruplarının her ikisinde de 8 Kadın ve 7 Erkek gönüllü birey yer almış, kadın bireyler toplam gönüllü sayısının %53,3'ünü, erkek bireyler ise %46,7'sini oluşturmuştur. Çalışma ve kontrol grubunda yer alan gönüllülerin cinsiyet dağılımları Çizelge 12'de verilmiştir.

Çizelge 12 Çalışmaya katılan gönüllülerin cinsiyet dağılımları

Bireylerin Özellikleri	Çalışma Grubu		Kontrol grubu		Toplam	
Cinsiyet	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kadın	8	53,3	8	53,3	16	53,3
Erkek	7	46,7	7	46,7	14	46,7
Toplam	15	100	15	100	30	100

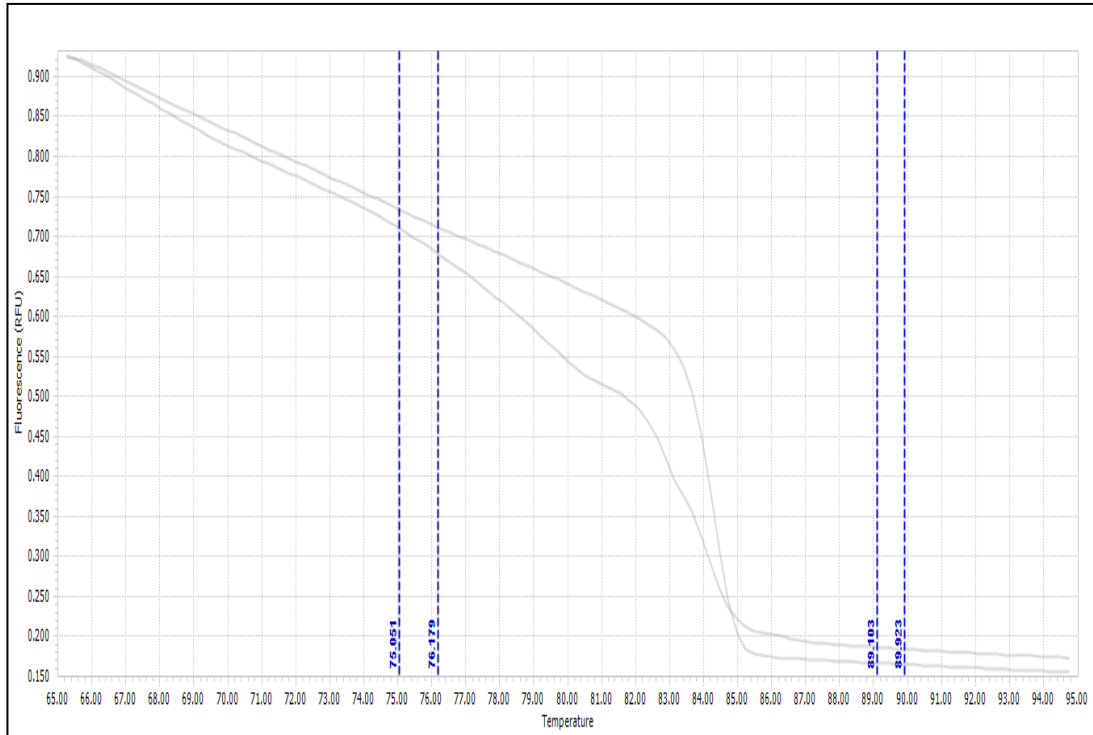
Çalışmamızda çalışma grubunda yer alan sağlıklı gönüllülerin yaşları 23-43 yıl arasında iken, kontrol grubunda 23-45 yıl arasında olduğu gözlenmiştir. Yaş ortalamaları çalışma grubunda 35,07, kontrol grubunda ise 34,73 olarak saptanmıştır. Kilo ve boy ortalamaları test grubunda 74,07 kg ve 1,69 cm iken, kontrol grubunda sırasıyla 65,80 kg ve 1,67 cm'dir. VKİ'leri çalışma grubunda 18,7-29,7 iken, kontrol grubunda 18,7-29,50 arasında olduğu saptanmıştır. Çalışma grubunda VKİ ortalaması 25,63 olarak saptanırken, kontrol grubunda ise 23,2 olduğu gözlenmiştir. Çalışma ve kontrol grubunda yer alan gönüllülerin yaş, kilo, boy, VKİ verileri Çizelge 13'de verilmiştir.

Çizelge 13 Çalışmaya katılan gönüllülerin yaş, kilo, boy, VKİ verilerinin dağılımı

Bireylerin Özellikleri	Çalışma grubu			Kontrol Grubu		
	Sayı	Mean (Min-Max)	Standart Sapma	Sayı	Mean (Min-Max)	Standart Sapma
Yaş	15	35,07 (23-43)	5,428	15	34,73 (23-45)	8,556
Kilo	15	74,07 (50-90)	15,173	15	65,80 (45-100)	15,091
Boy	15	1,69 (1,51-1,85)	0,107	15	1,67 (1,55-1,84)	0,086
VKİ	15	25,63 (18-29,70)	3,483	15	23,2 (18,7-29,50)	3,35

B. HRM Analizi Sonuçları

HRM analizi sonucu elde edilen sıcaklık-floresan şiddeti ham verileri normalize edilerek Biospeedy HRM yazılımı ile normalize erime eğrisi pofilleri elde edilmiştir (Şekil 7).

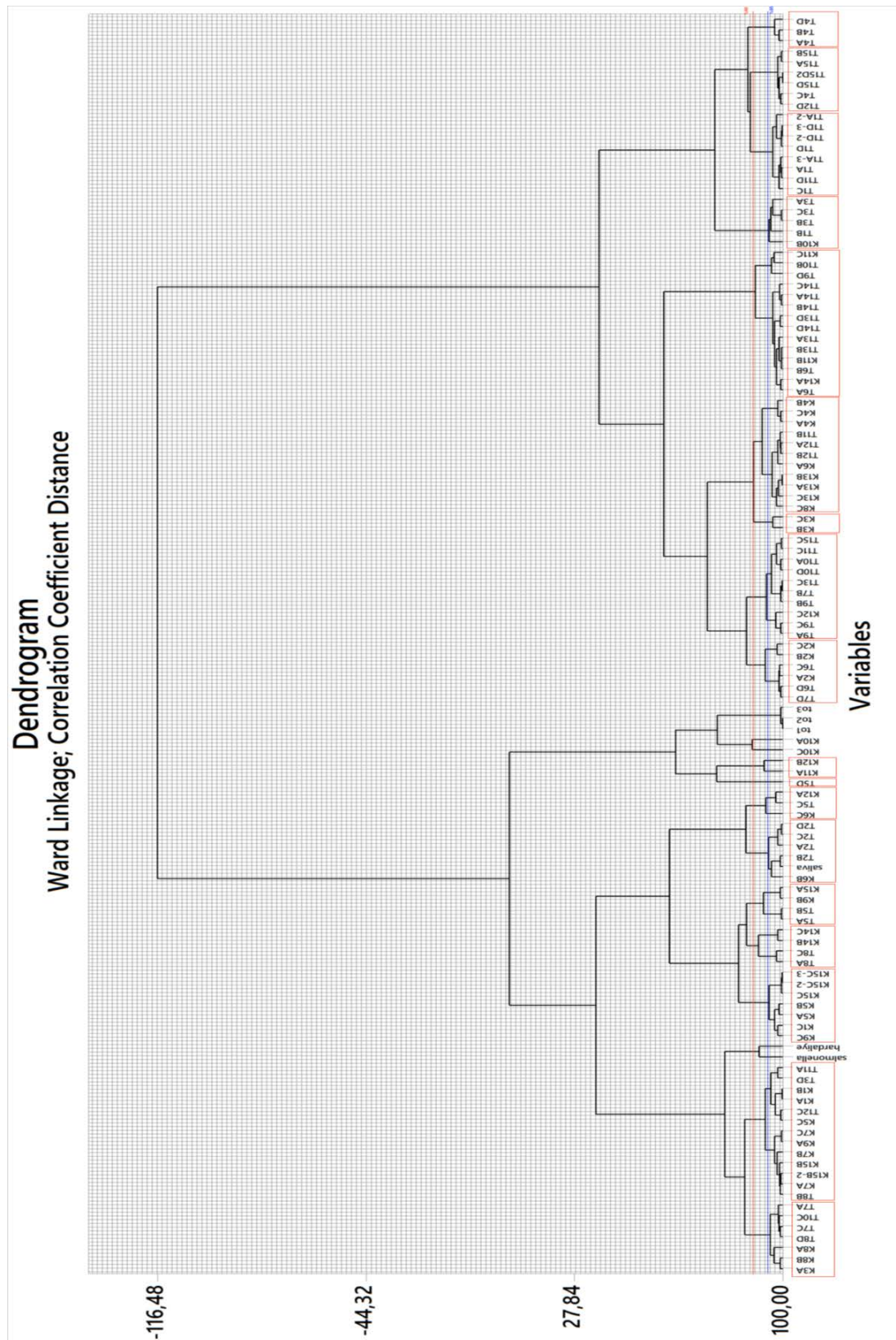


Şekil 7 Normalize erime eğrisi örneği

Çalışmamızda HRM analizi sonucu oluşan normalize edilmiş erime eğrisi profillerinin %95 ve üzeri benzerlik oranına göre bir dendrogram elde edilmiştir.

Normalize edilmiş erime eğrisi profillerinden elde edilen dendrogram temel alınarak örnekler arasında 20 HRM benzerlik grubu tespit edilmiştir (Şekil 8).





Şekil 8 Normalize edilmiş erime eğrisi profillerinin %95 ve üzeri benzerlik oranı ile hazırlanmış dendrogram

Çalışma ve kontrol gruplarında yer alan örneklerin, normalize edilen erime eğrilerinin %95 ve üzeri benzerlik oranına göre elde edilen 20 HRM benzerlik grubundaki dağılımına bakıldığında; G16'da 14 örnek saptanırken (%13,33), G2'de 12 örnek (%11,42), G15'de 11 örnek (%10,47), G13'de 10 örnek (%9,52), G1'de 7 örnek (%6,66), G12'de 6 örnek (%5,71), G3, G6, G17, G19'da 5'er örnek (%4,76), G4, G5 ve G18'de 4 örnek (%3,80), G7 ve G20'de 3 örnek (%2,85) , G9 ve G14'de 2 örnek (%1,90), G8, G10 ve G11'de ise 1 örnek (%0,95) saptanmıştır (Çizelge 14).

Çizelge 14 HRM Gruplarında Örneklerin Dağılımı

Gruplar	n (%)	Çalışma Grubu						Kontrol Grubu			
Gr1	6,66	7A	7C	8D	10C			3A	8A	8B	
Gr2	11,43	3D	8B	11A	12C			1A	1B	5C	7A
								7B	7C	9A	15B
Gr3	4,76	-						1C	5A	5B	9C 15C
Gr4	3,8	8A	8C					14B	14C		
Gr5	3,8	5A	5B					9B	15A		
Gr6	4,76	2A	2B	2C	2D			6B			
Gr7	2,85	5C						6C	12A		
Gr8	0,95	5D						-	-		
Gr9	1,9	-						11A	12B		
Gr10	0,95	-						10C			
Gr11	0,95	-						10A			
Gr12	5,71	6C	6D	7D				2A	2B	2C	
Gr13	9,52	7B	9A	9B	9C	10A	10D	12C			
		11C	13C	15C							
Gr14	1,9	-						3B	3C		
Gr15	10,47	11B	12A	12B				4A	4B	4C	6A
								8C	13A	13B	13C
Gr16	13,33	6A	6B	9D	10B	13A	13B	11B	11C	14A	
		13D	14A	14B	14C	14D					
Gr17	4,76	1B	3A	3B	3C			10B			
Gr18	3,8	1A	1C	1D	11D						
Gr19	4,76	4C	12D	15A	15B	15D					
Gr20	2,85	4A	4B	4D							

1. Çalışma grubu HRM analizi sonuçları

Çalışma grubunda diyet öncesi (A), diyetin 15. günü (B), diyetin 30. günü (C) ve hardaliyenin tüketildiği periyot (D) olmak üzere toplam 60 gaita örneği toplanmıştır. Çalışma grubunda yer alan ve 4 periyotta toplanan örneklerin HRM gruplarının dağılımına bakıldığında; G16'da 11 örnek (%24,44) saptanırken, G13'de 9 örnek (%20), G19'da 5 örnek (%11,11), G1, G2, G6, G17, G18'de 4 örnek (%8,88), G12, G15, G20'de 3 örnek (%6,66), G4 ve G5'de 2 örnek (%4,44), G7 ve G8'de 1 örnek (%2,22) saptanmış olup örneklerde G3, G9, G10, G11 ve G14 tespit edilememiştir (Çizelge 15).

Çizelge 15 HRM Gruplarında Çalışma Grubu Örneklerin Dağılımı

Gruplar	n (%)	Örnekler											
G1	8,9	10C	7A	7C	8D								
G2	8,9	3D	8B	11A	12C								
G3	0												
G4	4,4	8A	8C										
G5	4,4	5A	5B										
G6	8,9	2A	2B	2C	2D								
G7	2,2	5C											
G8	2,2	5D											
G9	0												
G10	0												
G11	0												
G12	6,7	6C	6D	7D									
G13	20	7B	9A	9B	9C	10A	10D	11C	13C	15C			
G14	0												
G15	6,7	11B	12A	12B									
G16	24,4	6A	6B	9D	10B	13A	13B	13D	14A	14B	14C	14D	
G17	8,9	1B	3A	3B	3C								
G18	8,9	1A	1C	1D	11D								
G19	11,1	4C	12D	15A	15B	15D							
G20	6,7	4A	4B	4D									

Çalışma grubunda örnek toplama periyodu boyunca toplanan örneklerde HRM gruplarının değişimi incelendiğinde, 1 numaralı örnekte diyet öncesi G18 iken, diyetin 15. günü G17, diyetin 30. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında G18 olduğu saptanmıştır. 3 numaralı örnekte diyet öncesi, diyetin 15. ve 30. günü G17 iken,

hardaliye tüketimi sonrasında G2 gözlenmiştir. 4 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G20 iken, diyetin 30. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında sırasıyla G19 ve G20 olduğu saptanmıştır. 5 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. gününde G5 iken, diyetin 30. günü G7, hardaliye tüketimi sonrasında G8 tespit edilmiştir. 6 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G16 iken, diyetin 30. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında G12 olduğu gözlenmiştir. 7 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 30. günü G1 iken, diyetin 15. günü G13, hardaliye tüketimi sonrası ise G12 olduğu saptanmıştır. 8 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 30. günü G4, diyetin 15. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında sırasıyla tespit edilen grupları G20 ve G1'dir. 9 numaralı örnekte diyet öncesi, diyetin 15. günü, diyetin 30. günü G13 iken, hardaliye tüketimi sonrası ise G16 olduğu saptanmıştır. 10 numaralı örnek diyet öncesi G13 iken, diyetin 15. ve 30. günü sırasıyla G16 ve G1 olarak saptanmış, hardaliye tüketimi sonrasında ise tekrar G13 gözlenmiştir. 11 numaralı örnekte diyet öncesi, diyetin 15. Günü, diyetin 30. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında gruplar sırasıyla G20, G15, G13, G18 olarak saptanmıştır. 12 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G15 iken, diyetin 30. günü ve hardaliye tüketimi sonrasında gruplar sırasıyla G2 ve G19 olarak gözlenmiştir. 13 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G16 iken, diyetin 30. günü G13, hardaliye tüketimi sonrasında G16 olduğu saptanmıştır. 15 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G19 iken, diyetin 30. günü G13, hardaliye tüketimi sonrasında G19 olduğu gözlenmiş olup, 2 ve 14 numaralı örneklerde grup açısından değişiklik saptanmamıştır (Çizelge 16).

Çizelge 16 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında HRM Gruplarının Dağılımı

Örnek No	A Diyet öncesi	B Diyetin 15.günü	C Diyetin 30.günü	D Hardaliye tüketimi
1	G18	G17	G18	G18
2	G6	G6	G6	G6
3	G17	G17	G17	G2
4	G20	G20	G19	G20
5	G5	G5	G7	G8
6	G16	G16	G12	G12
7	G1	G13	G1	G12
8	G4	G20	G4	G1
9	G13	G13	G13	G16
10	G13	G16	G1	G13
11	G20	G15	G13	G18
12	G15	G15	G2	G19
13	G16	G16	G13	G16
14	G16	G16	G16	G16
15	G19	G19	G13	G19

2. Kontrol grubu HRM analizi sonuçları

Kontrol grubunda yer alan gönüllülerden diyet öncesi (A), diyetin 15. günü (B), diyetin 30. günü (C) olmak üzere toplam 45 gaita örneği toplanmıştır. Kontrol grubunda yer alan ve 3 periyotta toplanan örneklerin HRM gruplarının dağılımına bakıldığında; G2 ve G15’de 8 örnek (%17,77) saptanırken, G3’de 5 örnek (%11,11), G1, G12 ve G16’da 3 örnek (%6,66), G4, G5, G7, G9, G14’de 2 örnek (%4,44), G6, G10, G11, G13, G17’ 1 örnek (%2,22) saptanmış olup, örneklerde G8, G18, G19 ve G20 tespit edilememiştir (Çizelge 17).

Çizelge 17 HRM Gruplarında Kontrol Grubu Örneklerin Dağılımı

Gruplar	n (%)	Örnekler								
G1	6,7	3A	8A	8B						
G2	17,8	1A	1B	5C	7A	7B	7C	9A	15B	
G3	11,1	1C	5A	5B	9C	15C				
G4	4,4	14B	14C							
G5	4,4	9B	15A							
G6	2,2	6B								
G7	4,4	6C	12A							
G8	0									
G9	4,4	11A	12B							
G10	2,2	10C								
G11	2,2	10A								
G12	6,7	2A	2B	2C						
G13	2,2	12C								
G14	4,4	3B	3C							
G15	17,8	4A	4B	4C	6A	8C	13A	13B	13C	
G16	6,7	11B	11C	14A						
G17	2,2	10B								
G18	0									
G19	0									
G20	0									

Kontrol grubunda örnek toplama periyodu boyunca toplanan örneklerde HRM gruplarının değişimi incelendiğinde, 1 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15.günü G2 iken diyetin 30.gününde G3 saptanmıştır. 3 numaralı örnekte diyet öncesi G1 iken, diyetin 15. ve 30. gününde G14 gözlenmiştir. 5 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G3 iken, diyetin 30. günü G2, 6 numaralı örnekte diyet öncesi G15 iken diyetin 15. günü G6, diyetin 30. günü ise G7 olduğu tespit edilmiştir. 8 numaralı örnekte diyet öncesi ve diyetin 15. günü G1 iken, diyetin 30. günü G15, 9 numaralı örnekte diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla G2, G5 ve G3 olduğu saptanmıştır. 10 numaralı örnekte diyet öncesi G11 iken, diyetin 15. günü G17, diyetin 30. günü ise G10 olduğu gözlenmiştir. 11

numaralı örnekte diyet öncesi G9 olarak saptanırken, diyetin 15. ve 30. gününde G16 olduğu tespit edilmiştir. 12 numaralı örnekte diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. Günü sırasıyla G7, G9 ve G13 iken, 14 numaralı örnekte diyet öncesi G16, diyetin 15. ve 30. gününde G4 saptanmıştır. 15 numaralı örnekte ise diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla G5, G2, G3 olduğu tespit edilmiştir. 2, 4, 7 ve 13 numaralı örneklerde ise örnek toplama periyotlarında HRM benzerlik grupları açısından bir değişiklik gözlenmemiştir (Çizelge 18).

Çizelge 18 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında HRM Gruplarının Dağılımı

Gönüllü Kodları	A Diyet öncesi	B Diyetin 15.günü	C Diyetin 30.günü
1	G2	G2	G3
2	G12	G12	G12
3	G1	G14	G14
4	G15	G15	G15
5	G3	G3	G2
6	G15	G6	G7
7	G2	G2	G2
8	G1	G1	G15
9	G2	G5	G3
10	G11	G17	G10
11	G9	G16	G16
12	G7	G9	G13
13	G15	G15	G15
14	G16	G4	G4
15	G5	G2	G3

C. Mikrobiyota Analizi Sonuçları

Çalışma ve kontrol grubu örneklerinde dizileme sonucu elde edilen örnek okumaları SILVA veritabanı ile eşleştirilerek haritalandırılmıştır. Mikrobiyota analizinde; çalışma ve kontrol grubunda bulunan gönüllülerden toplanan gaita örneklerinde filum, aile ve cins seviyesinde bakterilerin yüzde okunma oranları hesaplanarak bakteriyel mikrobiyota içeriği elde edilmiştir.

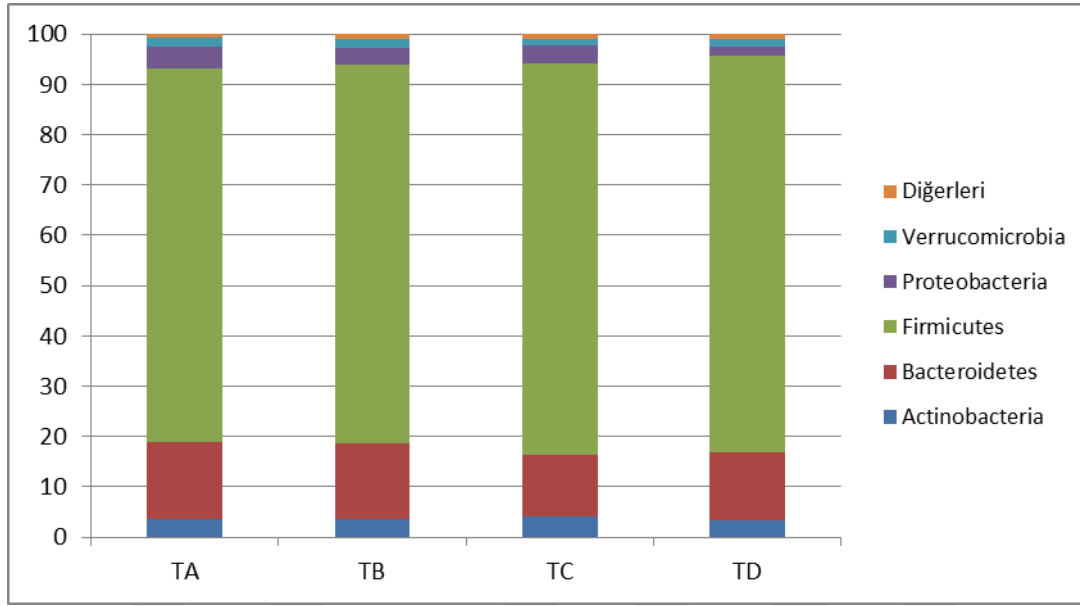
1. Çalışma Grubunda Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Çalışma grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde filum seviyesinde 13 bakteriyel grup tespit edilmiştir. Mikrobiyal bolluk oranı %1'in üzerinde olan bu gruplardan hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında en baskın olan filumların *Firmicutes* (sırasıyla %75,7 ve %78,7) ve *Bacteroidetes* (sırasıyla %14,3 ve %13,7) olduğu, diğer filumların ise *Actinobacteria* (sırasıyla %3,8 ve %3,3), *Proteobacteria* (sırasıyla %3,8 ve %1,9) ve *Verrucomicrobia* (sırasıyla %1,7 ve %1,5) olduğu saptanmıştır. *Patescibacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistetes*, *Cyanobacteria*, *Epsilonbacteraeota*, *Tenericutes* filumlarının ortalama yüzdeleri hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında %1'in altında kalmıştır. Filum seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 9'da ve Çizelge 19'da verilmiştir.

Çalışma grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk filum düzeyinde incelendiğinde; *Actinobacteria* diyet öncesi %3,7, diyetin 15. günü %3,5, diyetin 30. günü %4,1 iken hardaliye tüketimi sonrasında %3,3; *Bacteroidetes* diyet öncesi %15,3, diyetin 15. günü %15,2 ve diyetin 30. günü %12,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %13,7; *Firmicutes* diyet öncesi %74,2, diyetin 15. günü %75,2, diyetin 30. günü %77,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %78,7; *Proteobacteria* diyet öncesi %4,4, diyetin 15. günü %3,3, diyetin 30.günü %3,7 iken hardaliye tüketimi sonrasında %1,9; *Verrucomicrobia* ise diyet öncesi %1,6, diyetin 15. günü %2, diyetin 30. günü %1,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %1,5 oranında saptanmış olup, periyotlar arasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 19).

Çizelge 19 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Filum	A (%)	B (%)	C (%)	A-B-C Ortalama (%)	D (%)	P
<i>Actinobacteria</i>	3,7	3,5	4,1	3,8	3,3	>0,05
<i>Bacteroidetes</i>	15,3	15,2	12,4	14,3	13,7	>0,05
<i>Firmicutes</i>	74,2	75,2	77,6	75,7	78,7	>0,05
<i>Proteobacteria</i>	4,4	3,3	3,7	3,8	1,9	>0,05
<i>Verrucomicrobia</i>	1,6	2	1,4	1,7	1,5	>0,05
<i>Diğerleri</i>	0,8	0,9	0,8	0,8	0,9	>0,05



Şekil 9 Çalışma Grubunda Filum Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Çalışma grubunda hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 3 numaralı örnekte en fazla artan filum *Verrucomicrobia* (%53,8) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%71) olarak saptanırken, 5 numaralı örnekte en fazla artan filum *Firmicutes* (%112,4) iken en fazla azalan filum *Bacteroidetes*, (%100) 6 numaralı örnekte en fazla artan filum *Verrucomicrobia* (%292,6) iken, en fazla azalan filum *Actinobacteria* (%64,2), 7 numaralı örnekte en fazla artan filum *Firmicutes* (%13,9) iken en fazla azalan filum *Bacteroidetes* (%50,4), 8 numaralı örnekte en fazla artan filum *Bacteroidetes* (% 73,7) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%93,1), 9 numaralı örnekte en fazla artan filum *Bacteroidetes* (%73,4) iken en fazla azalan filum *Actinobacteria* (%55,2), 11 numaralı örnekte en fazla artan filum *Actinobacteria* (%106,8) iken en fazla azalan filum *Bacteroidetes* (%66,1), 12 numaralı örnekte en fazla artan filum *Actinobacteria* (%40,5) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%60,6) olduğu gözlenmiştir. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında 1, 2, 4, 10, 13, 14 ve 15 numaralı örneklerde herhangi bir filumda değişim saptanmamıştır. 12 numaralı örnekte ise değişim gözlenmeyen tek filumun *Verrucomicrobia* olduğu saptanmıştır. 5, 7 ve 8 numaralı örneklerde *Verrucomicrobia* filumuna ait mikrobiyal bolluğun %1'in altında olması sebebiyle değerlendirme dışı (DD) bırakılmıştır. (Çizelge 20). Çalışma grubunda yer alan gönüllülerde hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotasına etkisi

değerlendirildiğinde diyet öncesi ve hardaliye tüketimi sonrasında mikrobiyal bolluk açısından filum seviyesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 20. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Filum	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Actinobacteria</i>	0	0	-18,3	0	-6,6	-64,2	-48,6	-23,3	-55,2	0	106,8	40,5	0	0	0
<i>Bacteroidetes</i>	0	0	-35,0	0	-100,0	185,7	-50,4	73,7	73,4	0	-66,1	29,3	0	0	0
<i>Firmicutes</i>	0	0	2,1	0	112,4	9,1	13,9	14,6	-6,9	0	26,0	-6,7	0	0	0
<i>Proteobacteria</i>	0	0	-71,0	0	-95,6	174,2	1,6	-93,1	-6,6	0	9,4	-60,6	0	0	0
<i>Verrucomicrobia</i>	0	0	53,8	0	DD	292,6	DD	DD	-43,1	0	-34,0	0,0	0	0	0

2. Çalışma Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluk Oranları

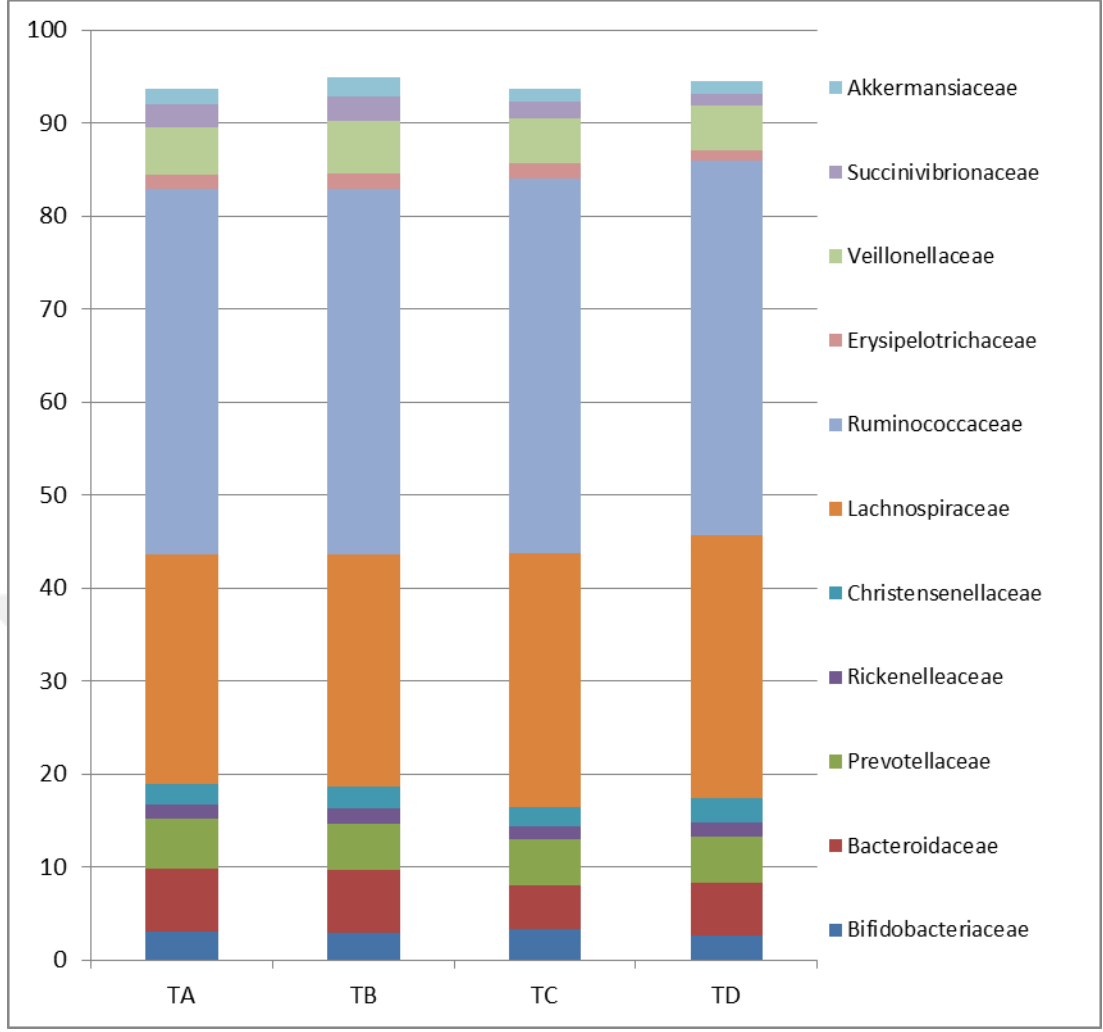
Çalışma grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde aile seviyesinde 72 bakteriyel grup tespit edilmiştir. Bu gruplardan mikrobiyal bolluk oranı %1'in üzerinde olan ve en baskın saptanan 10 aile arasında hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında yüzdece oranı en yüksek olan ailelerin *Ruminococcaceae* (sırasıyla %39,7 ve %40,3) ve *Lachnospiraceae* (sırasıyla %25,6 ve %28,3) olduğu, diğer ailelerin ise *Bacteroidaceae* (sırasıyla % 6,1 ve %5,6), *Veillonellaceae* (sırasıyla %5,2 ve %4,8), *Prevotellaceae* (sırasıyla %5,1 ve %4,9), *Bifidobacteriaceae* (sırasıyla %3,1 ve %2,7), *Succinivibrionaceae* (sırasıyla %2,4 ve %1,3), *Christensenellaceae* (sırasıyla %2,2 ve %2,7), *Akkermansiaceae* (sırasıyla %1,7 ve %1,5), *Erysipelotrichaceae* (sırasıyla %1,6 ve %1,1), *Rickenellaceae* (öncesi ve sonrası %1,5) olduğu gözlenmiştir (Çizelge 21). Aile seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 10 ve Çizelge 21'de verilmiştir.

Çalışma grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk aile düzeyinde incelendiğinde; *Bifidobacteriaceae* diyet öncesi %3,1, diyetin 15. günü %2,9, diyetin 30. günü %3,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %2,7; *Bacteroidaceae* diyet öncesi %6,8, diyetin 15. günü %6,9, diyetin 30. günü %4,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %5,6; *Prevotellaceae* diyet öncesi %5,3, diyetin 15.günü %5, diyetin 30. günü %4,9 iken hardaliye tüketimi sonrasında da %4,9; *Rickenellaceae* diyet öncesi %1,5, diyetin 15. günü %1,7, diyetin 30. günü %1,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %1,5; *Christensenellaceae* diyet öncesi ve diyetin 15. günü %2,3, diyetin 30. günü %2,1 iken hardaliye tüketimi sonrasında %2,7; *Lachnospiraceae* diyet öncesi %24,7, diyetin 15. günü %25, diyetin 30. günü %27,2

iken hardaliye tüketimi sonrasında %28,3; *Ruminococcaceae* diyet öncesi ve diyetin 15. günü %39,3, diyetin 30. günü %40,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %40,3; *Erysipelotrichaceae* diyet öncesi %1,4, diyetin 15. günü %1,7, diyetin 30. günü %1,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %1,1; *Veillonellaceae* diyet öncesi %5,1, diyetin 15. günü %5,7, diyetin 30. günü %4,8 iken hardaliye tüketimi sonrasında da %4,8; *Succinivibrionaceae* diyet öncesi ve diyetin 15. günü %2,6, diyetin 30. günü %1,9 iken hardaliye tüketimi sonrasında %1,3 olarak saptanırken; *Akkermansiaceae* diyet öncesi %1,6, diyetin 15. günü %2, diyetin 30. günü %1,4 iken hardaliye tüketimi sonrasında bu oranın %1,5 oranında saptanmış olup, periyotlar arasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$) (Çizelge 21).

Çizelge 21 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Aile Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Aile	A (%)	B (%)	C (%)	A-B-C Ortalama (%)	D (%)	p
<i>Bifidobacteriaceae</i>	3,1	2,9	3,4	3,1	2,7	>0,05
<i>Bacteroidaceae</i>	6,8	6,9	4,6	6,1	5,6	>0,05
<i>Prevotellaceae</i>	5,3	5	4,9	5,1	4,9	>0,05
<i>Rickenelleaceae</i>	1,5	1,7	1,4	1,5	1,5	>0,05
<i>Christensenellaceae</i>	2,3	2,3	2,1	2,2	2,7	>0,05
<i>Lachnospiraceae</i>	24,7	25	27,2	25,6	28,3	>0,05
<i>Ruminococcaceae</i>	39,3	39,3	40,4	39,7	40,3	>0,05
<i>Erysipelotrichaceae</i>	1,4	1,7	1,6	1,6	1,1	>0,05
<i>Veillonellaceae</i>	5,1	5,7	4,8	5,2	4,8	>0,05
<i>Succinivibrionaceae</i>	2,6	2,6	1,9	2,4	1,3	>0,05
<i>Akkermansiaceae</i>	1,6	2	1,4	1,7	1,5	>0,05



Şekil 10 Çalışma Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Çalışma grubunda hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 3 numaralı örnekte en fazla artan aile *Rikenellaceae* (%68,1) iken en fazla azalan aile *Prevotellaceae* (%89,6) olarak saptanırken, 5 numaralı örnekte en fazla artan aile *Lachnospiraceae* (%234,4) iken en fazla azalan aile *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Rikenellaceae*, *Veillonellaceae*, *Akkermansiaceae* (%100), 6 numaralı örnekte en fazla artan aile *Akkermansiaceae* (%292,6) iken en fazla azalan aile *Prevotellaceae* (%73,5), 7 numaralı örnekte en fazla artan aile *Veillonellaceae* (%325,8) iken en fazla azalan aile *Bacteroidaceae* (%72,3), 8 numaralı örnekte en fazla artan aile *Bacteroidaceae* (%997) iken en fazla azalan aile *Veillonellaceae* (%80,9), 9 numaralı örnekte en fazla artan aile *Veillonellaceae* (%173) iken en fazla azalan aile *Bifidobacteriaceae* (%50,5), 11 numaralı örnekte en fazla artan aile *Erysipelotrichaceae* (%207,8) iken en fazla azalan aile *Bacteroidaceae*, (%90,4) 12

numaralı örnekte en fazla artan aile *Erysipelotrichaceae* (%66,2) iken en fazla azalan aile *Akkermansiaceae* (%29,8) olduğu gözlenmiştir. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında 1, 2, 4, 10, 13, 14 ve 15 numaralı örneklerde değişim saptanmamıştır. 3, 6, 9 ve 12 numaralı örneklerde *Succinivibrionaceae*, 5 numaralı örnekte *Prevotellaceae* ve *Christensenellaceae*, 7 ve 8 numaralı örneklerde *Succinivibrionaceae* ve *Akkermansiaceae*, 11 numaralı örnekte ise *Prevotellaceae* ve *Succinivibrionaceae* ailelerinin mikrobiyal bolluğu %1'in altında kaldığı için değerlendirme dışı (DD) bırakılmıştır (Çizelge 22). Çalışma grubunda yer alan gönüllülerde hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotasına etkisi değerlendirildiğinde diyet öncesi ve hardaliye tüketimi sonrasında mikrobiyal bolluk açısından aile seviyesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 22. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Aile	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Bifidobacteriaceae</i>	0	0	11,7	0	-100,0	-34,6	-65,9	-33,2	-50,5	0,0	137,6	38,8	0,0	0,0	0,0
<i>Bacteroidaceae</i>	0	0	-13,7	0	-100,0	-17,8	-72,3	997,0	19,0	0,0	-90,4	31,1	0,0	0,0	0,0
<i>Prevotellaceae</i>	0	0	-89,6	0	DD	-73,5	-44,6	-34,9	156,9	0,0	DD	3,9	0,0	0,0	0,0
<i>Rikenellaceae</i>	0	0	68,1	0	-100,0	47,8	217,8	-27,8	-23,3	0,0	-51,5	7,0	0,0	0,0	0,0
<i>Christensenellaceae</i>	0	0	33,7	0	DD	205,9	119,5	60,8	-5,4	0,0	51,8	-27,4	0,0	0,0	0,0
<i>Lachnospiraceae</i>	0	0	31,0	0	234,4	13,2	-9,6	112,0	-19,0	0,0	24,7	-5,2	0,0	0,0	0,0
<i>Ruminococcaceae</i>	0	0	4,2	0	26,6	19,9	26,8	-14,0	-12,5	0,0	24,5	-6,6	0,0	0,0	0,0
<i>Erysipelotrichaceae</i>	0	0	-89,0	0	DD	-23,7	-48,3	348,8	-48,2	0,0	207,8	66,2	0,0	0,0	0,0
<i>Veillonellaceae</i>	0	0	-43,4	0	-100,0	-44,0	325,8	-80,9	173,0	0,0	-83,1	-22,8	0,0	0,0	0,0
<i>Succinivibrionaceae</i>	0	0	DD	0	-97,6	DD	DD	DD	DD	0,0	DD	DD	0,0	0,0	0,0
<i>Akkermansiaceae</i>	0	0	53,8	0	-100,0	292,6	DD	DD	-43,1	0,0	-34,0	-29,8	0,0	0,0	0,0

3. Çalışma Grubunda Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

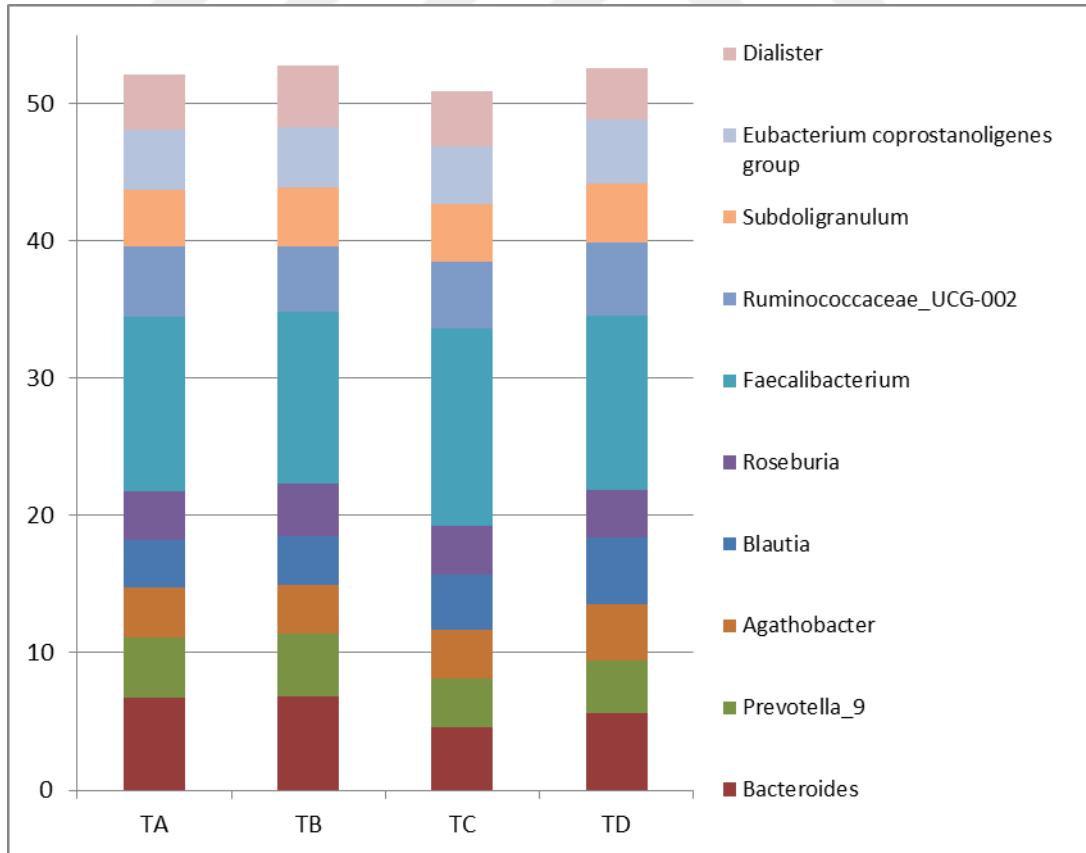
Çalışma grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde cins seviyesinde 238 bakteri grubu saptanmıştır. Bu gruplardan mikrobiyal bolluk oranı %1'in üzerinde olan ve en baskın saptanan 10 cins arasında hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında yüzde oranı en yüksek olan cinslerin *Faecalibacterium* (sırasıyla %13,2 ve %12,7) ve *Bacteroides* (sırasıyla %6,1 ve %5,6) iken, diğer cinslerin ise *Ruminococcus_UCG-002* (sırasıyla %5 ve %5,3), *Eubacterium coprostanoligenes group* (sırasıyla %4,3 ve %4,6), *Prevotella_9* (sırasıyla %4,1 ve %3,9) *Subdoligranulum* (sırasıyla %4,2 ve %4,3), *Dialister* (sırasıyla %4,2 ve %3,8),

Blautia (sırasıyla %3,7 ve %4,9), *Roseburia* (sırasıyla %3,7 ve %3,4), *Agathobacter* (sırasıyla %3,6 ve %4,1) olduğu saptanmıştır. Cins seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 11 ve Çizelge 23’de verilmiştir.

Çalışma grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk cins düzeyinde incelendiğinde; *Bacteroides* diyet öncesi %6,8, diyetin 15. günü %6,9, diyetin 30. günü %4,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %5,6 olarak saptanırken, *Prevotella_9* diyet öncesi %4,4, diyetin 15. günü %4,5, diyetin 30. günü %3,5 iken hardaliye tüketimi sonrasında %3,9; *Agathobacter* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. gününde %3,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %4,1; *Blautia* diyet öncesi %3,5, diyetin 15. günü %3,6, diyetin 30. günü sırasıyla %4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %4,9; *Roseburia* diyet öncesi %3,6, diyetin 15. günü %3,8 ve diyetin 30. günü %3,6 iken hardaliye tüketimi sonrasında %3,4; *Faecalibacterium* diyet öncesi %12,7, diyetin 15. günü %12,5, diyetin 30.günü %14,4 iken, hardaliye tüketimi sonrasında %12,7; *Ruminococcus_UCG-002* diyet öncesi %5,2, diyetin 15. günü %4,8, diyetin 30. günü %4,9 iken hardaliye tüketimi sonrasında %5,3; *Subdoligranulum* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %4,1, %4,3, %4,2 iken hardaliye tüketimi sonrasında %4,3; *Eubacterium coprostanoligenes group* diyet öncesi ve diyetin 15. günü % 4,4, diyetin 30. günü %4,2 iken hardaliye tüketimi sonrasında %4,6; *Dialister* ise diyet öncesi %4,1, diyetin 15. günü %4,4, diyetin 30. günü %4 iken hardaliye tüketimi sonrasında %3,8 oranında saptanmış olup, periyotlar arasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 23).

Çizelge 23 Çalışma Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Cins	A (%)	B (%)	C (%)	A-B-C Ortalama (%)	D (%)	p
<i>Bacteroides</i>	6,8	6,9	4,6	6,1	5,6	>0,05
<i>Prevotella_9</i>	4,4	4,5	3,5	4,1	3,9	>0,05
<i>Agathobacter</i>	3,6	3,6	3,6	3,6	4,1	>0,05
<i>Blautia</i>	3,5	3,6	4	3,7	4,9	>0,05
<i>Roseburia</i>	3,6	3,8	3,6	3,7	3,4	>0,05
<i>Faecalibacterium</i>	12,7	12,5	14,4	13,2	12,7	>0,05
<i>Ruminococcaceae_UCG-002</i>	5,2	4,8	4,9	5,0	5,3	>0,05
<i>Subdoligranulum</i>	4,1	4,3	4,2	4,2	4,3	>0,05
<i>Eubacterium coprostanoligenes group</i>	4,4	4,4	4,2	4,3	4,6	>0,05
<i>Dialister</i>	4,1	4,4	4	4,2	3,8	>0,05



Şekil 11 Çalışma Grubunda Cins Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Çalışma grubunda hardaliye tüketimi öncesinde ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 3 numaralı örnekte en fazla artan cins *Subdoligranulum* (%337,2) iken en fazla azalan cins *Prevotella_9* (%93,3) olarak saptanırken, 5 numaralı örnekte en fazla artan cins *Blautia* (%871) iken en fazla azalan cinsler *Bacteroides* ve *Dialister* (%100), 6 numaralı örnekte en fazla artan cins *Agathobacter* (%55,4) iken en fazla azalan cins *Prevotella_9* (%86), 7 numaralı örnekte en fazla artan cins *Dialister* (%350) iken en fazla azalan cins *Bacteroides* (%72,3), 8 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bacteroides* (%997) iken en fazla azalan cins *Prevotella_9* (%92), 9 numaralı örnekte en fazla artan cins *Prevotella_9* (%174,2) iken en fazla azalan cins *Blautia* (%35,2), 11 numaralı örnekte en fazla artan cins *Roseburia* (%152,9) iken en fazla azalan cins *Bacteroides* (%90,3), 12 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bacteroides* (% 31,1) iken en fazla azalan cins *Dialister* (%51) olduğu gözlenmiştir. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında 1, 2, 4, 10, 13, 14 ve 15 numaralı örneklerde değişim saptanmamıştır. 5 numaralı örnekte *Prevotella_9* ve *Ruminococcaceae_UCG-002*, 11 ve 12 numaralı örneklerde ise *Prevotella_9* cinslerinin mikrobiyal bolluğu %1'in altında kalması sebebiyle değerlendirme dışı bırakılmıştır (Çizelge 24). Çalışma grubunda yer alan gönüllülerde hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotasına etkisi değerlendirildiğinde diyet öncesi ve hardaliye tüketimi sonrasında mikrobiyal bolluk açısından cins seviyesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 24. Hardaliye tüketimi öncesi ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Cins	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Bacteroides</i>	0	0	-13,7	0	-100	-17,8	-72,3	997	19	0	-90,3	31,1	0	0	0
<i>Prevotella_9</i>	0	0	-93,3	0	DD	-86,0	178,4	-92	174,2	0	DD	DD	0	0	0
<i>Agathobacter</i>	0	0	114,8	0	38,3	55,4	9,7	46,4	28,9	0	-85,9	7,7	0	0	0
<i>Blautia</i>	0	0	66,2	0	871	41,0	-10,7	179,1	-35,2	0	122,6	-13,1	0	0	0
<i>Roseburia</i>	0	0	316,2	0	13,9	-22,5	-19,2	63,7	-8,6	0	152,9	-49	0	0	0
<i>Faecalibacterium</i>	0	0	50,2	0	-32,8	19,5	-17,7	103,8	-21,5	0	-14,8	-19,1	0	0	0
<i>Ruminococcaceae UCG-002</i>	0	0	-35,7	0	DD	-24,7	83,4	-71,6	41,5	0	86,2	24,3	0	0	0
<i>Subdoligranulum</i>	0	0	337,2	0	264,9	12,0	33,6	-33	-23,1	0	120	-39,2	0	0	0
<i>[Eubacterium]_coprostanoligenes_group</i>	0	0	-57,2	0	154,7	41,0	75,2	-38,8	35,5	0	44,2	21,8	0	0	0
<i>Dialister</i>	0	0	-80,1	0	-100	-37,5	350	-81,5	116,6	0	-84,6	-51	0	0	0

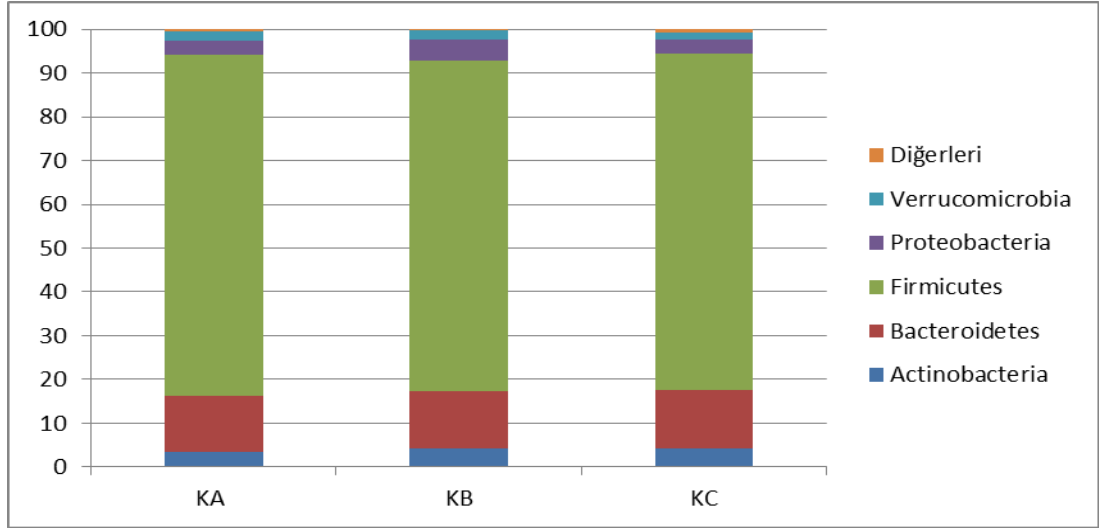
4. Kontrol Grubunda Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Kontrol grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde filum seviyesinde 13 bakteriyel grup tespit edilmiştir. Mikrobiyal bolluk oranı %1'in üzerinde olan bu gruplardan en baskın olan filumların *Firmicutes* (%76,8) ve *Bacteroidetes* (%13,1) olduğu ve diğer filumların ise sırasıyla *Actinobacteria* (%3,9), *Proteobacteria* (%3,7) ve *Verrucomicrobia* (%2,1) olduğu gözlenmiştir. *Patescibacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistetes*, *Cyanobacteria*, *Epsilonbacteraeota*, *Tenericutes* filumlarının yüzde ortalamaları %1'in altındadır. Filum seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 12'de ve Çizelge 25'de verilmiştir.

Kontrol grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk filum düzeyinde incelendiğinde, *Actinobacteria* diyet öncesi %3,4, diyetin 15. günü %4,3, diyetin 30. günü %4,1; *Bacteroidetes* diyet öncesi ve diyetin 15. günü %12,9, diyetin 30. günü %13,3; *Firmicutes* diyet öncesi %77,9, diyetin 15. günü %75,7, diyetin 30. günü %76,9; *Proteobacteria* diyet öncesi %3,1, diyetin 15. günü %4,6, diyetin 30. günü %3,2; *Verrucomicrobia* ise diyet öncesi %2, diyetin 15. günü %2,3, diyetin 30. günü %1,8 oranında saptanmış olup periyotlar arasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 25).

Çizelge 25 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Filum Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Filum	A (%)	B (%)	C (%)	A-B-C Ortalama (%)	p
<i>Actinobacteria</i>	3,4	4,3	4,1	3,9	>0,05
<i>Bacteroidetes</i>	12,9	12,9	13,3	13,1	>0,05
<i>Firmicutes</i>	77,9	75,7	76,9	76,8	>0,05
<i>Proteobacteria</i>	3,1	4,6	3,2	3,7	>0,05
<i>Verrucomicrobia</i>	2,0	2,3	1,8	2,1	>0,05
Diğerleri	0,6	0,2	0,7	0,5	>0,05



Şekil 12 Kontrol Grubunda Filum Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 1 numaralı örnekte en fazla artan filum *Proteobacteria* (%2460,8) iken en fazla azalan filum *Verrucomicrobia* (%84,4) olarak saptanırken, 3 numaralı örnekte en fazla artan filum *Actinobacteria* (%161,3) iken en fazla azalan filum *Firmicutes* (%6,6), 5 numaralı örnekte en fazla artan filum *Verrucomicrobia* (%539,4) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%96,1), 6 numaralı örnekte en fazla artan filum *Proteobacteria* (%445,3) iken, en fazla azalan filum *Verrucomicrobia* (%90), 8 numaralı örnekte en fazla artan filum *Proteobacteria* (%56,6) iken en fazla azalan filum *Actinobacteria* (%31), 9 numaralı örnekte en fazla artan filum *Proteobacteria* (%2460,8) iken en fazla azalan filum *Verrucomicrobia* (%84,4), 10 numaralı örnekte en fazla artan filum *Actinobacteria* (%911,2) iken en fazla azalan filum *Bacteroidetes* (%37,1), 11 numaralı örnekte en fazla artan filum *Bacteroidetes* (%21,1) iken en fazla azalan filum *Actinobacteria* (%51,9), 12 numaralı örnekte en fazla artan filum *Bacteroidetes* (%21,1) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%95,4), 14 numaralı örnekte en fazla artan filum *Proteobacteria* (%3822,4) iken en fazla azalan filum *Bacteroidetes* (%37,2), 15 numaralı örnekte en fazla artan filum *Firmicutes* (%57,7) iken en fazla azalan filum *Proteobacteria* (%84,7) olduğu gözlenmiştir. Diyet öncesi ve sonrasında 2, 4, 7 ve 13 numaralı örneklerde mikrobiyal bolluk açısından değişiklik saptanmamıştır. 3, 10 ve 11 numaralı örneklerde *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia*, 8, 12 ve 14 numaralı örneklerde *Verrucomicrobia* filumlarının mikrobiyal bolluğu %1'in altında kalması sebebiyle değerlendirme dışı (DD) bırakılmıştır (Çizelge 26). Kontrol grubundaki gönüllülerin diyet öncesi ve diyet sonrası örnekleri ile çalışma grubunda yer alan

gönüllülerin hardaliye tüketimi sonrası örnekleri arasında mikrobiyal bolluk açısından filum seviyesinde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 26. Kontrol grubunda diyet öncesi ve diyet sonrasında filum seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Filum	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Actinobacteria</i>	-43,8	0	161,3	0	78,0	85,4	0	-31,0	-43,8	911,2	-51,9	-9,1	0	150,7	57,2
<i>Bacteroidetes</i>	499,0	0	-1,8	0	-83,3	-40,5	0	-26,6	499,0	-37,1	430,6	21,1	0	-37,2	-29,5
<i>Firmicutes</i>	-15,0	0	-6,6	0	17,6	-9,3	0	3,6	-15,0	61,5	-16,4	19,2	0	-16,4	57,7
<i>Proteobacteria</i>	2460,8	0	DD	0	-96,1	445,3	0	56,6	2460,8	DD	DD	-95,4	0	3822,4	-84,7
<i>Verrucomicrobia</i>	-84,4	0	DD	0	539,4	-90,0	0	DD	-84,4	DD	DD	DD	0	DD	-48,3

5. Kontrol Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluk Oranları

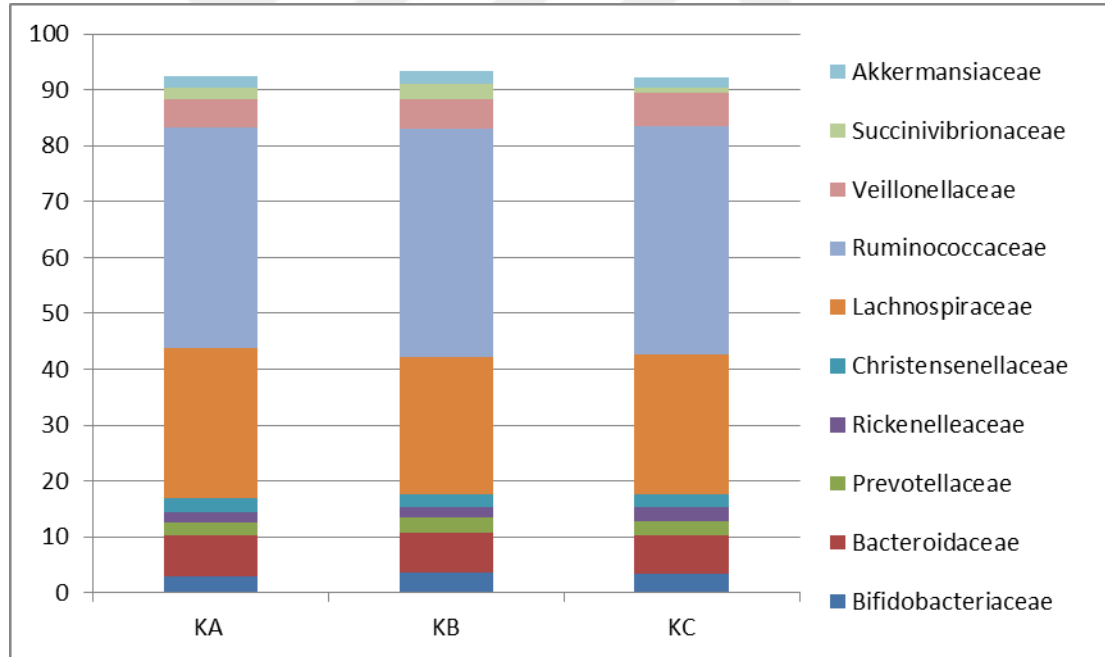
Kontrol grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde aile seviyesinde 72 bakteriyel grup tespit edilmiştir. Bu gruplardan mikrobiyal bolluğu %1'in üzerinde olan ve en baskın saptanan 10 aile arasında yüzde oranı en yüksek olan ailelerin *Ruminococcaceae* (%40,4) ve *Lachnospiraceae* (%25,5) olduğu, diğer ailelerin ise *Bacteroidaceae* (%7,1), *Veillonellaceae* (%5,4), *Bifidobacteriaceae* (%3,4), *Prevotellaceae* (%2,6), *Christensenellaceae* (%2,4), *Rickenellaceae*, *Akkermansiaceae* ve *Succinivibrionaceae* (%2) olduğu saptanmıştır. Aile seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 13'de ve Çizelge 27'de verilmiştir.

Kontrol grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk aile düzeyinde incelendiğinde; *Bifidobacteriaceae* diyet öncesi %3, diyetin 15. günü %3,7, diyetin 30. günü %3,5 saptanırken; *Bacteroidaceae* diyet öncesi %7,2, diyetin 15. ve 30. günü %7; *Prevotellaceae* diyet öncesi %2,4, diyetin 15. günü %2,9, diyetin 30. günü %2,5; *Rickenellaceae* diyet öncesi ve diyetin 15. günü %1,7, diyetin 30. günü %2,5; *Christensenellaceae* diyet öncesi ve diyetin 15.günü %2,5, diyetin 30. günü %2,3; *Lachnospiraceae* diyet öncesi %27, diyetin 15. günü %24,5, diyetin 30. günü %24,9; *Ruminococcaceae* diyet öncesi %39,5, diyetin 15. günü %40,7, diyetin 30. günü %40,9; *Veillonellaceae* diyet öncesi %4,9, diyetin 15. günü %5,4, diyetin 30. günü %6,1; *Succinivibrionaceae* diyet öncesi %2,3, diyetin 15. günü %2,7, diyetin 30. günü %0,9; *Akkermansiaceae* diyet öncesi %2, diyetin 15. günü %2,3, diyetin 30. günü %1,8 oranında saptanmış olup periyotlar arasında aile

seviyesinde mikrobiyal bolluk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$) (Çizelge 27).

Çizelge 27 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Aile Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Aile	A (%)	B(%)	C(%)	A-B-C Ortalama (%)	p
<i>Bifidobacteriaceae</i>	3,0	3,7	3,5	3,4	$>0,05$
<i>Bacteroidaceae</i>	7,2	7,0	7,0	7,1	$>0,05$
<i>Prevotellaceae</i>	2,4	2,9	2,5	2,6	$>0,05$
<i>Rickenelleaceae</i>	1,7	1,7	2,5	2,0	$>0,05$
<i>Christensenellaceae</i>	2,5	2,5	2,3	2,4	$>0,05$
<i>Lachnospiraceae</i>	27,0	24,5	24,9	25,5	$>0,05$
<i>Ruminococcaceae</i>	39,5	40,7	40,9	40,4	$>0,05$
<i>Veillonellaceae</i>	4,9	5,4	6,1	5,4	$>0,05$
<i>Succinivibrionaceae</i>	2,3	2,7	0,9	2,0	$>0,05$
<i>Akkermansiaceae</i>	2,0	2,3	1,8	2,0	$>0,05$



Şekil 13 Kontrol Grubunda Aile Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 1 numaralı örnekte en fazla artan aile *Bacteroidaceae* (%755,2) iken en fazla azalan aile *Akkermansiaceae* (%84,4), 3 numaralı en fazla artan aile *Rickenelleaceae* (%348,6) iken en fazla azalan aile *Prevotellaceae* (%100), 5 numaralı örnekte en fazla artan aile *Akkermansiaceae*

(%539,4) iken en fazla azalan aile *Bacteroidaceae* (%88,3), 6 numaralı örnekte en fazla artan aile *Succinivibrionaceae* (%848,2) iken en fazla azalan aile *Akkermansiaceae* (%90), 8 numaralı örnekte en fazla artan aile *Rickenelleaceae* (%423,3) iken en fazla azalan aile *Prevotellaceae* (%93,8), 9 numaralı örnekte en fazla artan aile *Bacteroidaceae* (%755,2) iken en fazla azalan aile *Akkermansiaceae* (%84,4), 10 numaralı örnekte en fazla artan aile *Veillonellaceae* (%9753,5) iken en fazla azalan aile *Christensenellaceae* (%73,7), 11 numaralı örnekte en fazla artan aile *Prevotellaceae* (%1351,8) iken en fazla azalan aile *Veillonellaceae* (%49,8), 12 numaralı örnekte en fazla artan aile *Prevotellaceae* (%244,7) iken en fazla azalan aile *Succinivibrionaceae* (%98,8), 14 numaralı örnekte en fazla artan aile *Bifidobacteriaceae* (%187,4) iken en fazla azalan aile *Bacteroidaceae* (%73), 15 numaralı örnekte en fazla artan aile *Rickenelleaceae* (%277,4) iken en fazla azalan aile *Succinivibrionaceae* (%100) olduğu gözlenmiştir. Diyet öncesi ve diyet sonrasında 2, 4, 7 ve 13 numaralı örneklerde mikrobiyal bolluk açısından değişim gözlenmemiştir. 1 ve 9 numaralı örneklerde *Prevotellaceae* ve *Succinivibrionaceae*, 3 ve 8 numaralı örneklerde *Succinivibrionaceae* ve *Akkermansiaceae*, 5 ve 14 numaralı örneklerde *Succinivibrionaceae*, 10 numaralı örnekte *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Rickenelleaceae*, *Succinivibrionaceae* ve *Akkermansiaceae*, 15 numaralı örnekte ise *Prevotellaceae* ailelerinin mikrobiyal bolluğu %1'in altında kalması sebebiyle değerlendirme dışı (DD) bırakılmıştır. (Çizelge 28). Kontrol grubundaki gönüllülerin diyet öncesi ve diyet sonrası örnekleri ile çalışma grubunda yer alan gönüllülerin hardaliye tüketimi sonrası örnekleri arasında mikrobiyal bolluk açısından aile seviyesinde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 28. Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında aile seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Aile	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Bifidobacteriaceae</i>	-50,4	0	153,2	0	101,5	71,5	0	-24,9	-50,4	DD	-49,1	-18,4	0	187,4	72,9
<i>Bacteroidaceae</i>	755,2	0	42,2	0	-88,3	-78,9	0	-15,7	755,2	DD	138,4	59,2	0	-73,0	-45,3
<i>Prevotellaceae</i>	DD	0	-100,0	0	-46,2	284,1	0	-93,8	DD	-43,9	1351,8	244,7	0	-26,6	DD
<i>Rickenelleaceae</i>	303,3	0	348,6	0	-75,2	-10,4	0	423,3	303,3	DD	862,2	-40,2	0	-35,6	277,4
<i>Christensenellaceae</i>	-43,3	0	-88,7	0	76,2	-58,2	0	161,9	-43,3	-73,7	-21,1	-30,7	0	-13,3	179,2
<i>Lachnospiraceae</i>	-17,2	0	-1,9	0	20,8	-30,2	0	-21,5	-17,2	-65,4	67,5	80,1	0	-40,9	6,0
<i>Ruminococcaceae</i>	-12,7	0	-14,5	0	14,5	-6,4	0	24,4	-12,7	46,8	-27,9	3,9	0	9,9	103,3
<i>Veillonellaceae</i>	-17,4	0	77,8	0	21,1	242,1	0	71,1	-17,4	9753,5	-49,8	-52,4	0	-31,3	-19,5
<i>Succinivibrionaceae</i>	DD	0	DD	0	DD	848,2	0	DD	DD	DD	DD	-98,8	0	DD	-100,0
<i>Akkermansiaceae</i>	-84,4	0	DD	0	539,4	-90,0	0	DD	-84,4	DD	DD	187,2	0	-2,7	-48,3

6. Kontrol Grubunda Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

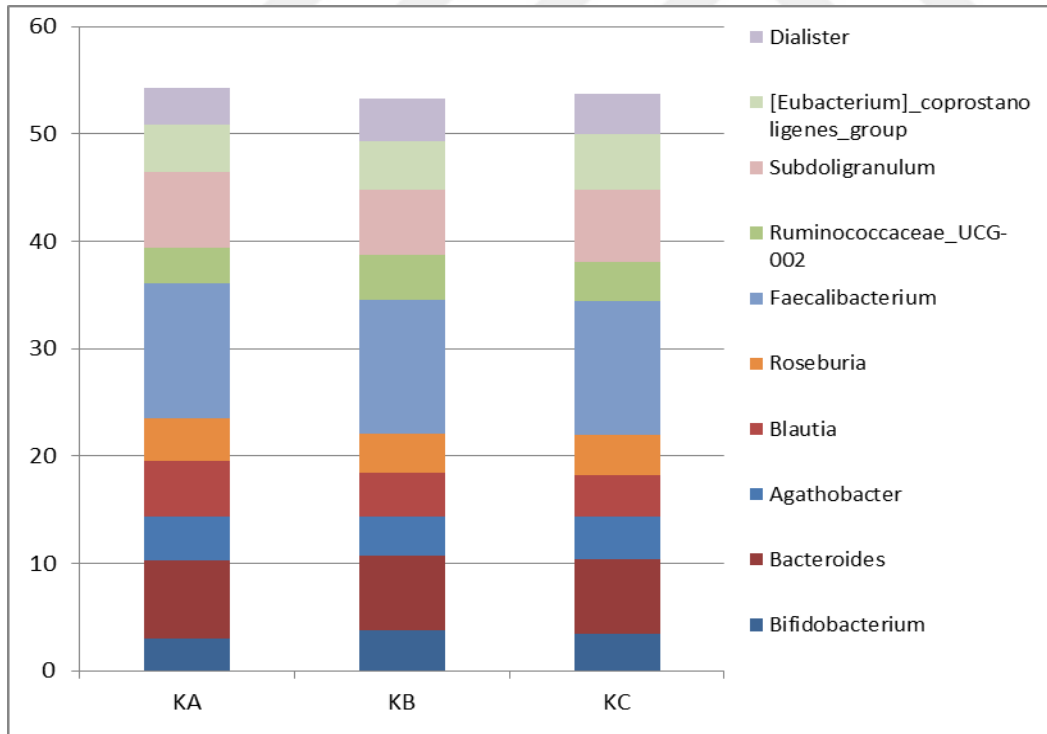
Kontrol grubunda örnek toplama periyodu boyunca alınan örneklerde cins seviyesinde 238 bakteri grup tespit edilmiştir. Bu gruplardan mikrobiyal bolluk oranı %1'in üzerinde olan ve en baskın saptanan 10 cins içerisinde yüzdece oranı en yüksek olan cinslerin *Faecalibacterium* (%12,4) ve *Bacteroides* (%7,1) olduğu, diğer cinslerin ise *Subdoligranulum* (%6,6), *Eubacterium coprostanoligenes group* (%4,7), *Blautia* (%4,4), *Agathobacter* (%3,9), *Roseburia*, *Dialister* ve *Ruminococcaceae_UCG-002* (%3,8) ve *Bifidobacterium* (%3,4) olduğu gözlenmiştir. Cins seviyesindeki grupların mikrobiyal bolluk oranları Şekil 14 ve Çizelge 29'da verilmiştir.

Kontrol grubunda örnek toplama periyotlarında mikrobiyal bolluk cins düzeyinde incelendiğinde; *Bifidobacterium* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %3, %3,7 ve %3,5 olarak saptanırken; *Bacteroides* diyet öncesi %7,2, diyetin 15. ve 30. günü %7; *Agathobacter* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %4,1, %3,7, %4; *Blautia* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %5,2, %4, %3,9; *Roseburia* diyet öncesi %4,1, diyetin 15. ve 30. günü %3,7; *Faecalibacterium* diyet öncesi ve diyetin 30.günü %12,5 iken, diyetin 15.günü %12,4; *Ruminococcus_UCG-002* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30.günü sırasıyla %3,3, %4,3, %3,7; *Subdoligranulum* diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %7,1, %6, %6,7; *Eubacterium*

coprostanoligenes group diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30.günü sırasıyla %4,4, %4,6, %5,2; *Dialister* ise diyet öncesi, diyetin 15. günü ve diyetin 30. günü sırasıyla %3,5, %3,9, %3,8 olarak saptanmış olup, periyotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 29).

Çizelge 29 Kontrol Grubunda Örnek Toplama Periyotlarında Cins Seviyesindeki Mikrobiyal Bolluk Oranları

Cins	A (%)	B (%)	C (%)	A-B-C ortalama (%)	p
<i>Bifidobacterium</i>	3,0	3,7	3,5	3,4	>0,05
<i>Bacteroides</i>	7,2	7,0	7,0	7,1	>0,05
<i>Agathobacter</i>	4,1	3,7	4,0	3,9	>0,05
<i>Blautia</i>	5,2	4,0	3,9	4,4	>0,05
<i>Roseburia</i>	4,1	3,7	3,7	3,8	>0,05
<i>Faecalibacterium</i>	12,5	12,4	12,5	12,5	>0,05
<i>Ruminococcaceae_UCG-002</i>	3,3	4,3	3,7	3,8	>0,05
<i>Subdoligranulum</i>	7,1	6,0	6,7	6,6	>0,05
<i>[Eubacterium]_coprostanoligenes_group</i>	4,4	4,6	5,2	4,7	>0,05
<i>Dialister</i>	3,5	3,9	3,8	3,8	>0,05



Şekil 14 Kontrol Grubunda Cins Seviyesinde Mikrobiyal Bolluklar

Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun değişimi bireysel olarak incelendiğinde; 1 numaralı örnekte en fazla artan

cins *Bacteroides* (%755,2) iken en fazla azalan cinsin *Roseburia* (%51,5) olduğu saptanırken, 3 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bifidobacterium* (%153,2) iken en fazla azalan cins *Subdoligranulum* (%60,5), 5 numaralı örnekte en fazla artan cins *Roseburia* (%106,3) iken en fazla azalan cins *Bacteroides* (%88,3), 6 numaralı örnekte en fazla artan cins *Dialister* (%292) iken en fazla azalan cins *Bacteroides* (%78,9), 8 numaralı örnekte en fazla artan cins *Subdoligranulum* (%129,1) iken en fazla azalan cins *Faecalibacterium* (%37,4), 9 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bacteroides* (%755,2) iken en fazla azalan cins *Roseburia* (%51,5), 10 numaralı örnekte en fazla artan cins *Dialister* (%3636,4) iken en fazla azalan cins *Blautia* (%83,7), 11 numaralı örnekte en fazla artan cins *Roseburia* (%244,2) iken en fazla azalan cins *Eubacterium coprostanoligenes group* (%66,5) 12 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bacteroides* (%59,2) iken en fazla azalan cins *Dialister* (%50,5), 14 numaralı örnekte en fazla artan cins *Bifidobacterium* (%187,4) iken en fazla azalan cins *Bacteroides* (%73), 15 numaralı örnekte en fazla artan cins *Eubacterium coprostanoligenes group* (%485,6) iken en fazla azalan cinsin *Roseburia* (%67,8) olduğu gözlenmiştir. Diyet öncesi ve diyet sonrasında 2, 4, 7 ve 13 numaralı örneklerde mikrobiyal bolluk açısından değişim saptanmamıştır. 1, 5 ve 9 numaralı örneklerde *Dialister*, 10 numaralı bireyde *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ve *Roseburia* cinslerinin mikrobiyal bolluğu %1'in altında kalması sebebiyle değerlendirme dışı (DD) bırakılmıştır. (Çizelge 30). Kontrol grubundaki gönüllülerin diyet öncesi ve diyet sonrası örnekleri ile çalışma grubunda yer alan gönüllülerin hardaliye tüketimi sonrası örnekleri arasında mikrobiyal bolluk açısından cins seviyesinde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 30. Kontrol grubunda diyet öncesi ve sonrasında cins seviyesinde mikrobiyal bolluğun bireysel değişimi

Cins	Örnek No ve Mikrobiyal Bolluk Değişim Oranı (%)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Bifidobacterium</i>	-50,4	0	153,2	0	101,5	71,5	0	-24,9	-50,4	DD	-49,1	-18,4	0	187,4	72,9
<i>Bacteroides</i>	755,2	0	42,2	0	-88,3	-78,9	0	-15,7	755,2	DD	138,4	59,2	0	-73,0	-45,3
<i>Agathobacter</i>	11,7	0	-36,9	0	-10,5	-45,6	0	-14,5	11,7	23,3	110,6	17,9	0	-3,2	-4,2
<i>Blautia</i>	-42,0	0	-25,5	0	72,4	-15,1	0	-24,3	-42,0	-83,7	28,5	51,9	0	-43,5	48,4
<i>Roseburia</i>	-51,5	0	-1,0	0	106,3	-29,4	0	25,6	-51,5	DD	244,2	28,7	0	-41,4	-67,8
<i>Faecalibacterium</i>	-25,8	0	-19,5	0	34,8	5,2	0	-37,4	-25,8	2112,8	126,6	33,2	0	-28,8	-1,8
<i>Ruminococcaceae</i> <i>_UCG-002</i>	-28,7	0	-42,0	0	40,3	16,6	0	81,0	-28,7	412,4	-1,4	-18,4	0	44,7	442,8
<i>Subdoligranulum</i>	-32,1	0	-60,5	0	47,3	-49,9	0	129,1	-32,1	-81,1	57,3	35,0	0	25,2	270,8
<i>[Eubacterium]</i> <i>coprostanoligenes</i> <i>_group</i>	65,2	0	-36,4	0	-39,5	7,9	0	35,1	65,2	99,8	-66,5	-37,2	0	31,6	485,6
<i>Dialister</i>	DD	0	112,0	0	DD	292,0	0	71,4	DD	3636,4	-46,3	-50,5	0	-25,0	-56,4

V. TARTIŞMA

Bitkilerin sekonder metabolizması sonucu oluşan sekonder metabolitlerin büyük bir bölümünü fenolik bileşikler oluşturmaktadır. Polifenol olarak da adlandırılan fenolik bileşikler, bir benzen halkasına bir veya daha fazla hidroksil molekülünün bağlanmasıyla oluşurlar. Sadece sebze ve meyvelerin renk ve tat oluşumundan değil aynı zamanda bitkilerin büyüme ve çoğalmasından da sorumludurlar (Chikezie vd., 2015; Teoh, 2015). Bitkilerin gövde, yaprak, çiçek gibi bölümlerinde, sebze ve meyvelerde, kırmızı şarap, yeşil çay gibi içeceklerde bulunan fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri söz konusudur. Fenolik bileşiklerin bilinen en iyi özellikleri, antioksidan aktivite göstermeleridir. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra antikarsinogenik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antimikrobiyal, nöroprotektif gibi pek çok biyolojik aktivite de sergilemektedirler (Heim vd., 2002; Saibabu vd., 2015; Durazzo vd., 2019).

Üzüm, meyveler arasında fenolik bileşik açısından en zengin meyveler arasında yer almaktadır. Yapılan birçok çalışmada üzüm ve üzümünden elde edilen üzüm suları, kırmızı/beyaz şarap gibi içeceklerin antioksidan özellikleri sayesinde kanser, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde ve görülme sıklığının azalmasında etkili olduğu bildirilmiş, ayrıca birçok mikroorganizmaya karşı da antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir (Xia vd, 2010; Fraga vd., 2019). İnsan sağlığı üzerindeki bu faydalı etkilerinden dolayı fenolik bileşen açısından zengin gıdalar beslenme alanında ilgi çekici hale gelmiştir.

Hardaliye, Ülkemizde Trakya bölgesinde, özellikle Kırklareli'nde, koyu renkli üzümlerden üretilen alkolsüz ve fermente bir içecektir. Üretimine Osmanlı döneminde başlandığı ve yaklaşık 500 yıllık bir geçmişe sahip olduğu tahmin edilen hardaliye, geleneksel bir Türk içeceği olarak bilinmektedir (Trakya Kalkınma Ajansı, 2014). Yapılan çalışmalar, hardaliyenin üretiminde kullanılan üzümler sebebiyle zengin fenolik bileşik içerdiği ve buna bağlı olarak antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, ayrıca hardaliye tüketiminin diyet

konjugat, malondialdehit ve homosistein konsantrasyonlarında anlamlı bir azalmaya sebep olduğunu bildirmiştir (Arıcı ve Coskun, 2001; Coskun, 2017). Gösterdiği bu biyolojik aktiviteler sebebiyle hardaliyenin fonksiyonel bir gıda olabileceği düşünülmüş ve araştırmacıların dikkatini çekmiştir.

İnsan vücudu, mikrobiyota olarak adlandırılan ve çoğu bakterilerden oluşan birçok mikroorganizmayı barındırmaktadır. Mikrobiyotanın bileşimine ve insan sağlığı üzerindeki etkisine artan bilimsel ilgi, bu konuda NIH İnsan Mikrobiyom Projesi, ELDERMET ve MetaHIT gibi uzun vadeli projelerin gerçekleşmesine yol açmıştır (Dudo-Chodak vd., 2015). Yeni nesil dizileme yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde kültürü yapılamayan mikroorganizmalar da belirlenmiş, özellikle vücudumuzda en yoğun ve en çeşitli mikroorganizmaya sahip bağırsak mikrobiyotasının yaklaşık 10-100 trilyon mikroorganizmadan oluştuğu bildirilmiştir. 16S rRNA hedefli yeni nesil dizileme teknikleri sayesinde bağırsak mikrobiyota kompozisyonu hakkında geniş çapta bilgi edinilmiş ve son yıllarda hastalık/sağlık durumunda mikrobiyal topluluğun oynadığı rol konusunda birçok çalışma yapılmıştır (Li vd., 2014; Eckburg vd., 2005).

Bağırsak mikrobiyota bileşiminin filum seviyesinde büyük çoğunluğunun *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*'e ait olduğu gözlenmiştir. *Firmicutes* filumu oldukça çeşitli olup 200'den fazla Gram pozitif bakteri yer alır. *Firmicutes* filumunda en sık görülen aileler, *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae*'dir. Bu filumda *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ve bütirat üreticileri olan *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, *Roseburia* gibi cinsler bulunur. İkinci en baskın filum olan *Bacteroidetes*, Gram negatif bakterileri içerir. *Bacteroidetes* filumu içerisinde en sık *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* ve *Rikenellaceae* aileleri ve *Bacteroides* ve *Prevotella* cinsleri görülür. Daha az oranda ise *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* ve diğer filumlar bulunur. *Actinobacteria* filumunda en sık *Collinsella* ve *Bifidobacterium*, *Proteobacteria* filumunda *Escherchia*, *Desulfovibrio*, *Verrucomicrobia* filumunda ise *Akkermansia* cinsleri yer alır (McDonald vd., 2017; Li vd., 2014).

Bağırsak mikrobiyotası bir organ gibi davranarak sağlıklı bireylerde önemli metabolik işlevleri olan kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde, intestinal bariyer bütünlüğünün korunmasında, immün sistemin ve beyin fonksiyonlarımızın düzenlenmesinde ve davranışlarımızda etkili rol almaktadır (Malard vd., 2021;

Jandhyala vd., 2015). Her bireye özgü bileşimi ve dağılımı söz konusu olan bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesinde doğum şekli, yaş, coğrafi farklılıklar, yaşam şekli, antibiyotik kullanımı gibi birçok faktör etki edebilmektedir (Malard vd., 2021). Diyet, bağırsak mikrobiyotasına etki eden faktörlerin başında gelmektedir. Birçok çalışmada farklı toplumlarda kültürel beslenme alışkanlıklarının ve diyet bileşenlerinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar fenolik bileşiklerin bağırsak mikrobiyota modülasyonunda etkili olabileceğini göstermiştir (Sanchez-Tapia vd., 2019).

Çalışmamızda sağlıklı bireylerde, fenolik bileşenler açısından zengin, alkolsüz ve fermente bir içecek olan hardaliyenin bağırsak mikrobiyotası modülasyonuna etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışma ve kontrol grubunda yer alan sağlıklı bireylerin diyet öncesi, diyetin 15. günü ve 30. günü olmak üzere örnek toplama periyotları boyunca alınan örnekler mikrobiyota içeriği yönünden incelendiğinde, mikrobiyal bolluğu %1'in üzerinde kalan en baskın filumların *Firmicutes* (sırasıyla %75,7 ve 76,8) ve *Bacteroidetes* (sırasıyla %14,3 ve %13,1) olduğu, diğer filumların ise *Actinobacteria* (sırasıyla %3,8 ve %3,9), *Proteobacteria* (sırasıyla %3,8 ve %3,7) ve *Verrucomicrobia* (sırasıyla %1,7 ve %2,1) olduğu gözlenmiştir. Aile seviyesinde mikrobiyal bolluğu %1'in üzerinde olan ve en baskın saptanan 10 aile içerisinde yüzdece oranı en yüksek olan ailelerin *Ruminococcaceae* (sırasıyla %40,3 ve %40,4) ve *Lachnospiraceae* (sırasıyla %28,3 ve %25,5) olduğu, diğerlerinin ise *Bifidobacteriaceae* (sırasıyla %3,1 ve %3,4), *Bacteroidaceae* (sırasıyla %6,1 ve %7,1), *Prevotellaceae* (sırasıyla %5,1 ve %2,6), *Rickeneallaceae* (sırasıyla %1,5 ve %2), *Christensenellaceae* (sırasıyla %2,2 ve %2,4), *Veillonellaceae* (sırasıyla %5,2 ve %5,4), *Succinivibrionaceae* (sırasıyla %2,4 ve %2), *Akkermansiaceae* (sırasıyla %1,7 ve %2) olduğu gözlenmiştir. Cins seviyesinde ise mikrobiyal bolluğu %1'in üzerinde kalan en baskın bakteri gruplarının *Faecalibacterium* (sırasıyla %13,2 ve %12,5) ve *Bacteroides* (sırasıyla %6,1 ve %7,1) olduğu, diğerlerinin ise *Agathobacter* (sırasıyla %3,6 ve %3,9), *Blautia* (sırasıyla %3,7 ve %4,4), *Roseburia* (sırasıyla %3,7 ve %3,8), *Ruminococcus_UCG-002* (sırasıyla %5 ve % 3,8), *Subdoligranulum* (sırasıyla %4,2 ve %6,6), *Eubacterium coprostanoligenes group* (sırasıyla %4,3 ve %4,7), *Dialister* (sırasıyla %4,2 ve 3,8) olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda sağlıklı bireylerden

oluşan çalışma ve kontrol grubu arasında mikrobiyota içeriği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, Avrupa ülkelerinden İspanya’da 2018 yılında yapılan bir çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda filum seviyesinde en baskın *Firmicutes* (77.31 ± 2.88), *Bacteroidetes* (15.86 ± 0.28), *Actinobacteria* (3.13 ± 0.65), *Verrucomicrobia* (1.78 ± 1.22) ve *Proteobacteria* (>1) filumları saptanmıştır. Aile seviyesinde ise en baskın *Ruminococcaceae* (37.97 ± 1.06), *Lachnospiraceae* (21.78 ± 0.71), *Bacteroidaceae* (13.05 ± 3.54), *Veillonellaceae* (2.67 ± 0.50) ve *Verrucomicrobiaceae* (1.82 ± 0.63) ailelerinin olduğu gözlenmiştir (Garcia-Mantrana vd., 2018). 2021 yılında Danimarka’dan yapılan bir çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda en baskın aileler *Bacteroidaceae*, *Christensenellaceae*, *Verrucomicrobiaceae*, *Rikenellaceae* ve *Desulfovibrionacea* iken, en baskın cinslerin ise *Akkermansia*, *Alistipes* ve *Bacteroides* olduğu bildirilmiştir (Alvarez-Silva vd., 2021). Asya ülkelerinden Çin’de 2019 yılında yapılan bir çalışmada filum seviyesinde *Bacteroidetes* ($39,48$), *Firmicutes* ($47,96$), *Proteobacteria* ($11,2$), *Actinobacteria* ($0,2$) ve *Verrucomicrobia* ($0,14$) saptanırken, cins seviyesinde *Bacteroides* ($32,2$), *Prevotella_9* ($9,28$), *Faecalibacterium* ($6,9$), *Roseburia* ($1,6$), *Ruminococcus_UCG-002* ($1,4$), *Dialister* ($1,3$), *Eubacterium coprostanoligenes group* ($0,9$), *Subdoligranulum* ($0,44$) tespit edilmiştir (Liu vd., 2019). 2021 yılında Kore’den bildirilen bir çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda filum seviyesinde en baskın bakteriyel grupların *Bacteroidetes* (54.2), *Firmicutes* (37.6), *Proteobacteria* (3.8) ve *Actinobacteria* (0.4) olduğu gözlenmiştir (Noh vd., 2021). Çalışmamızda filum, aile ve cins seviyesinde baskın olan grupların literatürle karşılaştırıldığımızda genel olarak uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir. Farklı olan sonuçların ise mikrobiyotanın şekillenmesinde önemli rol oynayan etnik köken, kültürel farklılıklar, coğrafi koşullar, yaşam şekli ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörlerden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Ülkemizdeki çalışmalar incelendiğinde, Özkul ve ark. tarafından 2020 yılında Ankara’dan bildirilen bir çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda en baskın filumların *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* olduğu gözlenmiştir. Aile seviyesinde ise en baskın grupların *Ruminococcaceae* ($35,7$) ve *Lachnospiraceae* ($25,8$) olduğu saptanmıştır. Cins seviyesinde en baskın bakteri

gruplarının *Clostridium*, *Escherichia*, *Methanobrevibacter*, *Lactobacillus*, *Colinsella* ve *Ruminococcus* olduğu gözlenmiştir (Ozkul vd., 2020). Mortaş ve ark. tarafından 2020 yılında Ankara'dan bildirilen bir çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda en baskın filumun *Firmicutes* olduğu, diğer filumların ise *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* olduğu gözlenmiştir. Cins seviyesinde ise en baskın bakteriyel grupların *Eubacterium rectale group*, *Dialister*, *Roseburia*, *Coprococcus*, *Blautia*, *Eubacterium hallii group*, *Subdoligranulum*, *Ruminococcaceae* UCG-002, *Faecalibacterium*, *Bacteroides* ve *Prevotella* olduğu saptanmıştır (Mortas vd., 2020). Mammadova ve ark.nın 2021 yılında Ankara'da yaptıkları çalışmanın sağlıklı kontrol grubunda en baskın filumların *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* olduğu, en baskın cinslerin ise *Roseburia*, *Dialister*, *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium cluster XI*, *Holdemania* ve *Turicibacter* olduğu bildirilmiştir (Mammadova vd., 2021). Çalışmamızda filum ve aile seviyesinde baskın bakteri gruplarının ülkemizdeki verilerle uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir. Cins seviyesindeki bulgulardaki farklılıkların ise yaşanan şehir, beslenme alışkanlıkları, bireysel farklılıklar gibi mikrobiyota modülasyonunu etkileyen faktörlerden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Beslenme şekli, hem mikrobiyal popülasyonları hem de metabolik aktivitelerini modüle eden önemli faktörlerden biridir. Yapılan bazı çalışmalar bağırsak mikrobiyotasının diyetteki büyük değişikliklere hızla cevap verebildiğini bildirmiştir. 10 gün boyunca düşük yağlı diyet veya düşük lif içerikli ve yüksek yağlı diyet ile beslenen kişilerde mikrobiyota bileşiminin 24 saat içerisinde değiştiği, diyet sona erdikten 48 saat sonra başlangıç haline döndüğü gözlenmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının diyetteki hızlı değişikliklere kısa sürede cevap vermesine rağmen başka bir çalışmada, 10 günlük bir diyet müdahalesinin gönüllülerin mikrobiyota kompozisyonunu değiştirmede yeterli olmadığı bildirilmiştir (David vd., 2014). Farklı toplumlarda uzun süreli beslenme alışkanlıklarının karşılaştırıldığı çalışmalarda ise uzun vadeli beslenmenin enterotip kümelenmeleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (De Filippo vd., 2011; Schnorr vd., 2014).

Bizim çalışmamızda sağlıklı bireylerden oluşan çalışma ve kontrol grubunu oluşturan gönüllülerde araştırma süresince sağlıklı bir beslenme planı uygulanmıştır. Çalışma ve kontrol grubunda örnek toplama periyotları boyunca alınan örnekler incelendiğinde çalışma ve kontrol grupları arasında ve örnek toplama periyotları

arasında mikrobiyal içerik yönünden filum, aile ve cins seviyesinde anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Çalışma ve kontrol gruplarında sağlıklı bireyler yer aldığından ve gönüllülerin çalışma öncesi beslenme alışkanlıklarının benzer olması nedeniyle uygulanan diyetin mikrobiyal bolluk oranları açısından belirgin bir değişikliğe yol açmadığını düşünmekteyiz.

Birçok sebze ve meyvede, kakao, çay, kahve, şarap gibi bitkisel gıdada bulunan polifenollerin tüketiminin insan sağlığına faydalı çeşitli etkileri son yıllarda yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Polifenol tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanmaya karşı koruyucu etkileri olduğu, bununla birlikte obezite, diyabet riskini ve yaşlanmaya bağlı bilişsel fonksiyon kaybını azalttığı saptanmıştır (Heim vd., 2002; Saibabu vd., 2015; Durazzo vd., 2019). Bu nedenle, polifenollerin insan sağlığına faydalarını ortaya koymak için altta yatan mekanizmaların belirlenmesi önemli bir araştırma konusu olmuştur.

Polifenol tüketimi ayrıca, bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek insan sağlığını etkileyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda fenolik bileşiklerle bağırsak mikrobiyotası arasında çift yönlü bir etkileşim olduğunu gösterilmiştir. Bağırsak mikrobiyotası polifenolleri metabolize ederek oluşan biyoaktif metabolitler, patojenik bakterilerin çoğalmasını inhibe ederek ve faydalı bakterilerin çoğalmasını stimule ederek mikrobiyotayı modüle etmektedir (Cardona vd., 2013).

Bağırsak bakterileri tarafından metabolize edilen polifenollerin ve/veya metabolitlerinin bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için çeşitli in vitro çalışmalar yürütülmüştür. 2008 yılında İngiltere’de yapılan çalışmada kateşin ve epikateşinin fekal örneklerle inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Kateşin ile inkübasyon sonucunda *Clostridium coccoides*–*Eubacterium rectale* group, *Bifidobacterium spp.* ve *Escherichia coli* türlerinde anlamlı bir artış saptanırken, *C. histolyticum* group üzerinde önemli bir inhibitör etki gözlenmiştir. Epikateşin sayesinde ise sadece *C. coccoides*–*Eubacterium rectale* grubunda artış olduğu bildirilmiştir (Tzounis vd., 2008). 2013 yılında İspanya’da yapılan bir çalışmada üzüm çekirdek ekstraktı olan flavan-3-ol insan gaita örnekleri ile in vitro fermentasyonunu gerçekleştirerek fermentasyon süresince *Lactobacillus/Enterococcus* oranında artış gözlenirken, *Clostridium histolyticum* grubunda ise azalma olduğunu bildirilmiştir. Bu veriler doğrultusunda flavonoidlerin prebiyotik etki göstererek bağırsak sağlığını olumlu yönde etkilediklerini bildirmiştir (Cueva

vd., 2013). Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar incelendiğinde ise kırmızı şarap ve üzüm ekstraktlarındaki polifenoller ile beslenen ratlarda *Clostridium spp.* türlerinde azalma, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus spp.* türlerinde ise artış gözlenmiştir (Dolara vd., 2005). İn vitro ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, şarap ve üzüm ekstraktından elde edilen polifenollerin bağırsaktaki mikrobiyotasının kolonizasyonunu ve bileşimini olumlu yönde etkilediği görülmüştür.

Literatür verileri incelendiğinde polifenollerle yapılan insan çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. 2001 yılında Japonya’da yapılan bir çalışmada, 14 gün boyunca 0.5 g/gün üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidin ekstraktları tüketen sağlıklı bireylerde *Enterobacteriaceae* türlerinde azalma, *Bifidobacterium spp.* miktarında anlamlı bir artış olduğu bildirilmiştir (Yamakoshi vd., 2001). 2012 yılında İspanya’da sağlıklı bireylerle yapılan çalışmada, 20 gün boyunca 272 mL/gün kırmızı şarap tüketiminin filum düzeyinde *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*; cins seviyesinde ise *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides* ve *Bifidobacterium*; ve *Blautia coccoides-Eubacterium rectale* grubu ve *B. uniformis* ve *Eggerthella spp.* grubunda artışa yol açtığı gözlenmiştir (Queipo-Ortuno vd., 2012). 2016 yılında Hollanda’da yapılan bir çalışmada ise kırmızı şarap tüketiminin *Faecalibacterium prausnitzii* bolluğu ile pozitif yönde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zhernakova vd., 2016). 2019 yılında Amerika’da yapılan bir çalışmada 86,49g/gün kuru üzüm tüketen sağlıklı bireylerde *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroidetes sp.* ve *Ruminococcus sp.* artarken, *Klebsiella sp.*, *Prevotella sp.* ve *Bifidobacterium spp.* türlerinde azalma olduğu bildirilmiştir (Wijayabahu vd., 2019). 2021 yılında İspanya’da yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca 250 ml/gün kırmızı şarap tüketiminin *Akkermansia* türlerinde anlamlı artışa yol açtığı bildirilmiştir (Belda vd., 2021). Bu çalışmaların aksine, 2018 yılında İspanya’da yapılan bir çalışmada ise 3 hafta boyunca 1,4g/gün üzüm posası ekstraktlarının tüketiminin bağırsak mikrobiyotasında bir değişime yol açmadığı bildirilmiştir (Gil-Sanchez vd., 2018). Polifenol açısından zengin, alkolsüz ve fermente bir içecek olan hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotasına etkinliğinin araştırıldığı çalışmamızda, haftanın 3 günü 250ml/gün hardaliye tüketen çalışma grubunda yer alan gönüllülerin diyet öncesi ve hardaliye tüketimi sonrası örnekleri mikrobiyal bolluk açısından karşılaştırıldığında, filum, aile ve cins seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmamıştır ($p>0,05$). Çalışma grubunda yer alan gönüllülerin hardaliye tüketimi sonrası örnekleri kontrol grubunda yer alan gönüllülerin diyet öncesi ve diyet sonrası örnekleri ile mikrobiyal bolluk açısından karşılaştırıldığında, filum, aile ve cins seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Çalışmamızda hardaliye tüketimi öncesi ve sonrası örnekler mikrobiyal bolluk açısından incelendiğinde hardaliye tüketiminin sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının idamesine katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Polifenollerin mikrobiyota modülasyonuna yönelik literatürde bildirilen verilerle çalışmamızda elde edilen sonuçlardaki farklılığın hardaliye içeriğindeki polifenol kompozisyonunun çeşitliliği, hardaliyenin içerdiği polifenol miktarı ve çalışma süresine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Bağırsak mikrobiyotası bileşiminde meydana gelen değişimler olarak tanımlanan disbiyozisin obezite, diyabet gibi metabolik sendrom, Alzheimer, Parkinson gibi birçok nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkili olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda polifenollerin disbiyozisle ilişkili olduğu bildirilen bazı hastalıklarda bağırsak mikrobiyotasını modüle edebileceği bildirilmiştir. Obez bireylerle yürütülen bir çalışmada 30 gün boyunca 272 ml/gün alkolsüz kırmızı şarap tüketiminin *Firmicutes/Bacteroidetes* oranını azalttığı, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Roseburia*'da artışa yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca metabolik sendromu olan kişilerde azalan *Akkermansia muciniphila* miktarının polifenol tüketimi ile arttığı gözlenmiştir (Moreno-Indias vd., 2016). Bu veriler, hardaliye tüketiminin disbiyozisle ilişkili bir hastalık grubunda bağırsak mikrobiyotası modülasyonuna etkinliğinin araştırılmasının yararlı olacağını düşündürmüştür.

Sonuç olarak; ülkemizde hardaliye tüketiminin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkinliğini ilk kez araştıran çalışmamızda mikrobiyota bileşiminin filum, aile ve cins seviyesinde literatür verileriyle uyumlu olduğu gözlenirken, çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile literatürdeki veriler arasındaki farklılığın etnik köken, kültürel alışkanlıklar, yaşam şekli, beslenme alışkanlıkları ve bireysel farklılıklar gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca çalışmamıza katılan sağlıklı bireylerde hardaliye tüketiminin sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının sürekliliğine katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Bu bağlamda disbiyozisle ilişkili değişik hastalık gruplarında daha kapsamlı örneklem sayısı ile farklı hardaliye tüketim miktarları, uygulama süreleri ve farklı analiz yöntemlerinin deneneceği klinik çalışmalardan

elde edilecek verilerin hardaliye tüketimi ve bağırsak mikrobiyotası modülasyonu arasındaki ilişkinin anlaşılmasında faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.





VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Zengin polifenol içeriğine sahip olan üzümlerden elde edilen, alkolsüz, fermente bir içecek olan hardaliyenin sağlıklı bireylerde bağırsak mikrobiyotası modülasyonuna etkinliğini incelemek amacıyla yapılan çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Sağlıklı bireylerin yer aldığı çalışmamızda, gönüllülerin mikrobiyota içeriğinin filum, aile ve cins seviyesinde literatür verileriyle genel olarak uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Literatürdeki farklı sonuçların bağırsak mikrobiyotasının şekillenmesinde önemli rol oynayan etnik köken, kültürel alışkanlıklar, yaşam şekli, beslenme alışkanlıkları ve bireysel farklılıklar gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Sağlıklı gönüllülerle yürütülen çalışmamızda, hardaliye tüketen çalışma grubunda, diyet öncesi ve hardaliye tüketimi sonrasında örnekler mikrobiyal bolluk açısından karşılaştırıldığında filum, aile ve cins seviyesinde anlamlı fark saptanmazken, hardaliye tüketiminin sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının sürekliliğine katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Literatür verileriyle çalışmamızdan elde edilen sonuçlardaki farklılığın, hardaliye bileşimindeki polifenol çeşitliliği, hardaliyenin sahip olduğu polifenol miktarı ve hardaliye tüketim süresine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamız, hardaliye tüketimi ve bağırsak mikrobiyota ilişkisine yönelik literatürde yapılan ilk çalışma olması nedeniyle, çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler bu konuda yapılacak yeni çalışmalar için oldukça önem taşımaktadır. Çalışmamızın sonucunda saptadığımız veriler ışığında, hardaliye tüketiminin mikrobiyota modülasyonuna katkısının daha iyi anlaşılabilmesi için yeni verilere ihtiyaç olduğu söylenebilir. Bu bağlamda hardaliye tüketimi ve bağırsak mikrobiyotası ilişkisini irdeleyen, özellikle disbiyozis ilişkili çeşitli hasta gruplarında, geniş örneklem sayılı, hardaliye tüketiminin çeşitli miktarlarda ve çeşitli sürelerde uygulandığı, mikrobiyota analizinde farklı yöntemlerin de kullanıldığı kapsamlı yeni çalışmaların planlanarak

yeni veriler elde edilmesinin hardaliye tüketimi ve mikrobiyota modülasyonunun daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmüştür.



VII. KAYNAKLAR

KİTAPLAR

CELEP, G. S., RASTMANESH, R., MAROTTA, F. (2014). Microbial Metabolism of Polyphenols and Health. In: Watson R. R., Preedy W. R., Zibadi, S. (editors). **Polyphenols in Human Health and Disease**, Academic Press; Cambridge, 577–589.

PATHAK, S., KESAVAN, P., BANERJEE, A., BANERJEE, A., CELEP, G. S., BISSI, L., MAROTTA, F. (2018). Metabolism of Dietary Polyphenols by Human Gut Microbiota and Their Health Benefits. In: Watson R. R., Preedy W. R., Zibadi, S. (editors). **Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease**, Academic Press; Cambridge, 347–359.

MAKALELER

ALVAREZ-SILVA, C., KASHANI, A., HANSEN, T. H., PINNA, N. K., ANJANA, R. M., DUTTA, A., SAXENA, S., STØY, J., KAMPMANN, U., NIELSEN, T., JØRGENSEN, T., GNANAPRAKASH, V., GNANAVADIVEL, R., SUKUMARAN, A., RANI, C., FÆRCH, K., RADHA, V., BALASUBRAMANYAM, M., NAIR, G. B., DAS, B., ... PEDERSEN, O. (2021). “Trans-ethnic gut microbiota signatures of type 2 diabetes in Denmark and India”, **Genome medicine**, 13(1), 37.

ALVESALO, J., VUORELA, H., TAMMELA, P., LEINONEN, M., SAIKKU, P., VUORELA, P. (2006). “Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on Chlamydia pneumoniae in cell culture”, **Biochemical pharmacology**, 71(6), 735–741.

AMOUTZOPOULOS, B., LÖKER, G. B., SAMUR, G., CEVIKKALP, S. A., YAMAN, M., KÖSE, T., & PELVAN, E. (2013). “Effects of a

traditional fermented grape-based drink 'hardaliye' on antioxidant status of healthy adults: a randomized controlled clinical trial”, **Journal of the science of food and agriculture**, 93(14), 3604–3610.

ANTONINI, M., LO CONTE, M., SORINI, C., FALCONE, M. (2019). “How the Interplay Between the Commensal Microbiota, Gut Barrier Integrity, and Mucosal Immunity Regulates Brain Autoimmunity”, **Frontiers in immunology**, 10, 1937.

APOSTOLIDIS, E., Y. I. KWON, K. SHETTY. (2006). “Potential of cranberry-based herbal synergies for diabetes and hypertension management”, **Asia. Pac. J. Clin. Nutr.** 15: 433–441.

ARICI, M., & COSKUN, F. (2001). “Hardaliye: fermented grape juice as a traditional Turkish beverage”, **Food Microbiology**, 18(4), 417–421.

ARUMUGAM, M., RAES, J., PELLETIER, E., LE PASLIER, D., YAMADA, T., MENDE, D. R., FERNANDES, G. R., TAP, J., BRULS, T., BATTO, J. M., BERTALAN, M., BORRUEL, N., CASELLAS, F., FERNANDEZ, L., GAUTIER, L., HANSEN, T., HATTORI, M., HAYASHI, T., KLEEREBEZEM, M., KUROKAWA, K., ... BORK, P. (2011). “Enterotypes of the human gut microbiome”, **Nature**, 473(7346), 174–180.

BARROSO, E.; MUNOZ-GONZALEZ, I.; JIMÉNEZ, E.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M.V.; PELÁEZ, C.; MARTÍNEZ-CUESTA, M.C.; REQUENA, T. (2016). “Phylogenetic profile of gut microbiota in healthy adults after moderate intake of red wine”, **Mol. Nutr. Food Res**, 3, 1-9.

BELDA, I., CUEVA, C., TAMARGO, A., RAVARANI, C. N., ACEDO, A., BARTOLOMÉ, B., MORENO-ARRIBAS, M. V. (2021). “A multi-omics approach for understanding the effects of moderate wine consumption on human intestinal health”, **Food & function**, 12(9), 4152–4164.

- BHASKAR, S., SUDHAKARAN, P.R., HELEN, A., (2016). "Quercetin attenuates atherosclerotic inflammation and adhesion molecule expression by modulating TLR-NF- κ B signaling pathway", **Cellular Immunology**, 310, 131–140.
- BHULLAR, K. S. ve RUPASINGHE, H. P. (2013). "Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases". **Oxidative medicine and cellular longevity**, 2013, 891748.
- BIRT, D.F., JEFFERY, E., (2013). "Flavonoids", **Advances in Nutrition**, 4, 576–577.
- CAESAR R, TREMAROLI V, KOVATCHEVA-DATCHARY P, CANI PD, BÄCKHED F. (2015). "Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling", **Cell Metab**, 22:658–68.
- CARDONA, F., ANDRÉS-LACUEVA, C., TULIPANI, S., TINAHONES, F. J., & QUEÍPO-ORTUÑO, M. I. (2013). "Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health", **The Journal of nutritional biochemistry**, 24(8), 1415–1422.
- Caruana, M., Cauchi, R., & Vassallo, N. (2016). "Putative Role of Red Wine Polyphenols against Brain Pathology in Alzheimer's and Parkinson's Disease", **Frontiers in nutrition**, 3, 31.
- CARVALHO-WELLS AL, HELMOLZ K, NODET C, MOLZER C, LEONARD C, MCKEVITH B, et al. (2010). "Determination of the in vivo prebiotic potential of a maizebased whole grain breakfast cereal: a human feeding study", **Br J Nutr**, 104:1353–6.
- CASTALDO, L., NARVÁEZ, A., IZZO, L., GRAZIANI, G., GASPARI, A., MINNO, G. D., RITIENI, A. (2019). "Red Wine Consumption and Cardiovascular Health", **Molecules**, 24(19), 3626.
- CHEN, A. Y. AND Y. C. CHEN. (2013). "A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention" **Food chem**, 138: 2099–2107.

- CHÍKEZIE, P.C., IBEGBULEM, C.O., MBAGWU, F.N., 2015. "Bioactive principles from medicinal plants" **Research Journal of Phytochemistry**, 9, 88–115.
- CHO, Y. S., SCHILLER, N. L., OH, K. H. (2008). "Antibacterial effects of green tea polyphenols on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", **Current microbiology**, 57(6), 542–546.
- CHUANG, C. C., ve MCINTOSH, M. K. (2011). "Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases", **Annual review of nutrition**, 31, 155–176.
- COOK, N.C., SAMMAN, S., (1996). "Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources", **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 7, 66–76.
- COSKUN, F. (2017). "A Traditional Turkish Fermented Non-Alcoholic Grape-Based Beverage, "Hardaliye."", **Beverages**, 3(4), 2.
- COSME, F., PÍNTO, T., & VILELA, A. (2018). "Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Grape Juices: A Chemical and Sensory View", **Beverages**, 4(1), 22.
- COSTABÍLE A, FAVA F, RÖYTIÖ H, FORSSTEN SD, OLLI K, KLIEVINK J, et al. (2012). "Impact of polydextrose on the faecal microbiota: a double-blind, crossover, placebo-controlled feeding study in healthy human subjects", **Br J Nutr.** 108:471–81.
- COSTABÍLE A, KLINDER A, FAVA F, NAPOLÍTANO A, FOGLIANO V, LEONARD C, et al. (2008). "Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study", **Br J Nutr.** 99:110–20.
- CUEVA C, SÁNCHEZ-PATÁN F, MONAGAS M, WALTON GE, GIBSON GR, MARTÍN-ÁLVAREZ PJ, et al. (2013). "In vitro fermentation of grape seed flavan-3-ol fractions by human faecal microbiota: changes in microbial groups and phenolic metabolites", **FEMS Microbiol Ecol** 83:792-805.

- DAGLIA, M. (2012). "Polyphenols as antimicrobial agents", **Current Opinion in Biotechnology**, 23(2), 174–181.
- DAI, J., & MUMPER, R. J. (2010). "Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties", **Molecules**, 15(10), 7313–7352.
- DALILE, B., VAN OUDENHOVE, L., VERVLÏET, B., VERBEKE, K. (2019). "The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication", **Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology**, 16(8), 461–478.
- D'ARCHIVIO, M., FILESI, C., DI BENEDETTO, R., GARGIULO, R., GIOVANNINI, C., MASELLA, R. (2007). "Polyphenols, dietary sources and bioavailability", **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, 43(4), 348–361.
- DAVID, L. A., MAURICE, C. F., CARMODY, R. N., GOOTENBERG, D. B., BUTTON, J. E., WOLFE, B. E., LING, A. V., DEVLIN, A. S., VARMA, Y., FISCHBACH, M. A., BIDDINGER, S. B., DUTTON, R. J., TURNBAUGH, P. J. (2014). "Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome", **Nature**, 505(7484), 559–563.
- DE FILIPPO C, CAVALIERI D, DI PAOLA M, RAMAZZOTTI M, POULLET JB, MASSART S, COLLINI S, PIERACCINI G, LIONETTI P. (2011). "Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa", **Proc Natl Acad Sci U S A**, 107(33):14691–14696.
- DE VRESE M. ve SCHREZENMEIR J. (2008). "Probiotics, prebiotics, and synbiotics", **Adv Biochem Eng Biotechnol**, 111:1–66.
- DE VUYST L ve LEROY F. (2011). "Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production, and gas production", **Int J Food Microbiol**, 149, 73–80.
- DEFILIPPIS F, PELLEGRINI N, VANNINI L, JEFFERY IB, LA STORIA A, LAGHI L. (2015). "High-level adherence to a Mediterranean diet

beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome”, **Gut**, gutjnl-2015.

DEL RÍO, D., RODRÍGUEZ-MATEOS, A., SPENCER, J.P.E., TOGNOLINI, M., BORGES, G., CROZIER, A. (2013). “Dietary (Poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases”, **Antioxidants and Redox Signaling**, 18, 1818–1892.

DOLARA P, LUCERI C, DE FILIPPO C, FEMIA AP, GIOVANNELLI L, CADERNI G, et al. (2005). “Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats”, **Mutat Res**, 591:237–46.

DUDA-CHODAK, A., TARKO, T., SATORA, P., SROKA, P. (2015). “Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review”, **European journal of nutrition**, 54(3), 325–341.

DURAZZO, A., LUCARINI, M., SOUTO, E. B., CICALA, C., CAIAZZO, E., IZZO, A. A., NOVELLINO, E., SANTINI, A. (2019). “Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health” **Phytotherapy research : PTR**, 33(9), 2221–2243.

ECKBURG, P. B., BIK, E. M., BERNSTEIN, C. N., PURDOM, E., DETHLEFSEN, L., SARGENT, M., GILL, S. R., NELSON, K. E., & RELMAN, D. A. (2005). “Diversity of the human intestinal microbial flora”, **Science**, 308(5728), 1635–1638.

EID N, ENANI S, WALTON G, CORONA G, COSTABILE A, GIBSON G, et al. (2014). “The impact of date palm fruits and their component polyphenols, on gut microbial ecology, bacterial metabolites and colon cancer cell proliferation”, **J Nutr Sci**. 3:e46.

FAVA F, GITAU R, GRIFFIN BA, GIBSON GR, TUOHY KM, LOVEGROVE JA. (2013). “The type and quantity of dietary fat and carbohydrate

- alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome “at-risk” population”, **Int J Obes**, 37:216–23.
- FRAGA, C. G., , CROFT, K. D., , KENNEDY, D. O., , & TOMÁS-BARBERÁN, F. A., (2019). “The effects of polyphenols and other bioactives on human health”, **Food & function**, 10(2), 514–528.
- FRIEDMAN, M., HENÍKA, P. R., LEVÍN, C. E., MANDRELL, R. E., KOZUKUE, N. (2006). “Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*”, **Journal of food protection**, 69(2), 354–361.
- GALINIÁK, S., AEBÍSHER, D., BARTUSÍK-AEBÍSHER, D. (2019). “Health benefits of resveratrol administration”, **Acta biochimica Polonica**, 66(1), 13–21.
- GARCÍA-MANTRANA, I., SELMA-ROYO, M., ALCANTARA, C., & COLLADO, M. C. (2018). “Shifts on Gut Microbiota Associated to Mediterranean Diet Adherence and Specific Dietary Intakes on General Adult Population”, **Frontiers in microbiology**, 9, 890.
- GIL-SÁNCHEZ I, ESTEBAN-FERNÁNDEZ A, GONZÁLEZ DE LLANO D, SANZ-BUENHOMBRE M, GUADARRANA A, SALAZAR N et al., (2018). “Supplementation with grape pomace in healthy women: changes in biochemical parameters, gut microbiota and related metabolic biomarkers. Dynamic gastrointestinal digestion of grape pomace extracts: bioaccessible phenolic metabolites and impact on human gut microbiota”, **J Funct Foods**, 45:34–46.
- GRAF, B. A., MÍLBURY, P. E., BLUMBERG, J. B. (2005). “Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence”, **Journal of medicinal food**, 8(3), 281–290.
- GÜNDÜZ GT, VURMAZ AK, SOLAK E, SÖZBİR HD. (2019). “Antimicrobial, Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of the Traditional Turkish Beverages Produced by Using Grapes”, **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, 7(sp1): 119-125.

- HASAN, N., & YANG, H. (2019). "Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation", **PeerJ**, 7, e7502.
- HATTORI, M. ve TAYLOR, T. D. (2009). "The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology", **DNA research: an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes**, 16(1), 1–12.
- HEİM, K. E., TAGLIAFERRO, A. R., BOBİLYA, D. J. (2002). "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships", **The Journal of nutritional biochemistry**, 13(10), 572–584.
- HELENO, S.A., MARTİNS, A., QUEİROZ, M.J.R.P., FERREİRA, I.C.F.R., (2015). "Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: a review", **Food Chemistry**. 173, 501–513.
- HENTGES DJ, MAİER BR, BURTON GC, FLYNN MA, TSUTAKAWA RK. (1977). "Effect of a high-beef diet on the fecal bacterial flora of humans", **Cancer Res**. 37:568–71.
- HERNANDEZ-JİMENEZ A, GOMEZ-PLAZA E, MARTİNEZ-CUTİLLAS A, KENNEDY JA. (2009) "Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes" J. Agric. **Food Chem**, 57:10798–10803.
- HİRASAWA, M. ve TAKADA, K. (2004). "Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*", **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, 53(2), 225–229.
- HO, H. Y., CHENG, M. L., WENG, S. F., LEU, Y. L., CHİU, D. T. (2009). "Antiviral effect of epigallocatechin gallate on enterovirus 71", **Journal of agricultural and food chemistry**, 57(14), 6140–6147.
- HOOPER, L. V., GORDON, J. I. (2001). "Commensal host-bacterial relationships in the gut". **Science**, 292(5519), 1115–1118.
- JANDHYALA, S. M., TALUKDAR, R., SUBRAMANYAM, C., VUYYURU, H., SASİKALA, M., NAGESHWAR REDDY, D. (2015). "Role of the

normal gut microbiota”, **World journal of gastroenterology**, 21(29): 8787–8803.

JEFFERY, I. B. ve O'TOOLE, P. W. (2013). “Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living”, **Nutrients**, 5(1), 234–252.

JIN, N. Z., Y. P. ZHU, J. W. ZHOU, L. MAO, R. C. ZHAO, T. H. FANG AND X. R. WANG. (2006). “Preventive effects of quercetin against benzo[a]pyrene-induced DNA damages and pulmonary precancerous pathologic changes in mice”, **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.** 98: 593–598.

KANG S, DENMAN SE, MORRISON M, YU Z, DORE J, LECLERC M, et al. (2010). “Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn’s disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray”. **Inflamm Bowel Dis.** 16:2034–42.

KEİM N. L. ve MARTİN R. J. (2014). “Dietary whole grain–microbiota interactions: insights into mechanisms for human health”, **Adv Nutr.** 5:556–7.

KHAN I, YASİR M, FARMAN M, KUMOSANİ T, ALBASRI SF, BAJOUH OS, AZHAR EI. (2019). “Evaluation of gut bacterial community composition and antimicrobial resistome in pregnant and non-pregnant women from Saudi population”, **Infect Drug Resist.** 21;12:1749-1761.

KHAN, M. M., AHMAD, A., ISHRAT, T., KHAN, M. B., HODA, M. N., KHUWAJA, G., RAZA, S. S., KHAN, A., JAVED, H., VAIBHAV, K., ISLAM, F. (2010). “Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of Parkinson's disease”, **Brain research**, 1328, 139–151.

KİM CH, PARK J, KİM M. (2014). “Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation”, **Immune Netw**, 14:27.

KİM MS, HWANG SS, PARK EJ, BAE JW. (2013). “Strict vegetarian diet improves the risk factors associated with metabolic diseases by

- modulating gut microbiota and reducing intestinal inflammation”, **Environ Microbiol Rep**, 5:765–75.
- KİM, S. -H. AND K. -C. CHOİ. (2013). “Anti-cancer effect and underlying mechanism(s) of kaempferol, a phytoestrogen, on the regulation of apoptosis in diverse cancer cell models”, **Toxicol. Res**, 29: 229–234.
- KLİNDWORTH, A., PRUESSE, E., SCHWEER, T., PEPLİES, J., QUAST, C., HORN, M., & GLÖCKNER, F. O. (2013). “Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies”, **Nucleic acids research**, 41(1), e1.
- KRİS-ETHERTON, P. M., HECKER, K. D., BONANOME, A., COVAL, S. M., BİNKOSKİ, A. E., HİLPERT, K. F., GRIEL, A. E., ETHERTON, T. D. (2002). “Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer”, **The American journal of medicine**, 113 (Suppl 9B), 71–88.
- KUMAR, S., & PANDEY, A. K. (2013). “Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview”. **The Scientific World Journal**, 1–16.
- KWON, Y. I., D. A. VATTEM, K. SHETTY. (2006). “Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension”. **Asia. Pac. J. Clin. Nut.**, 15: 107–118.
- KWON, Y. -I., E. APOSTOLIDİS, K. SHETTY. (2008a). “Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes”. **J. Food Biochem**, 32: 15–31.
- KYSELOVA Z. (2011). “Toxicological aspects of the use of phenolic compounds in disease prevention”, **Interdisciplinary toxicology**, 4(4), 173–183.
- LAFAY, S., GİL-IZQUIERDO, A., (2008). “Bioavailability of phenolic acids”, **Phytochemistry Reviews**, 7, 301–311
- LAZAR, V., DİTU, L. M., PİRCALABİORU, G. G., GHEORGHE, I., CURUTIU, C., HOLBAN, A. M., PİCU, A., PETCU, L., CHİFİRİUC, M. C. (2018). “Aspects of Gut Microbiota and Immune System

Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer”, **Frontiers in immunology**, 9, 1830.

LECOMTE V, KAAKOUSH NO, MALONEY CA, RAIPURIA M, HUINAO KD, MITCHELL HM, et al. (2015). “Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters”, **PLoS ONE**. 10:e0126931.

LEY, R. E., TURNBAUGH, P. J., KLEIN, S., GORDON, J. I. (2006). “Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity”, **Nature**, 444(7122), 1022–1023.

LI, A. N., LI, S., ZHANG, Y. J., XU, X. R., CHEN, Y. M., & LI, H. B. (2014). “Resources and biological activities of natural polyphenols”, **Nutrients**, 6(12), 6020–6047.

LI, J., JIA, H., CAI, X., ZHONG, H., FENG, Q., SUNAGAWA, S., ARUMUGAM, M., KULTIMA, J. R., PRIFTI, E., NIELSEN, T., JUNCKER, A. S., MANICHANH, C., CHEN, B., ZHANG, W., LEVENEZ, F., WANG, J., XU, X., XIAO, L., LIANG, S., ZHANG, D., ... MetaHIT Consortium (2014). “An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome” **Nature Biotechnology**, 32(8), 834–841.

LIN, R. D., CHIN, Y. P., HOU, W. C., LEE, M. H. (2008). “The effects of antibiotics combined with natural polyphenols against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, **Planta medica**, 74(8), 840–846.

LIU JE, ZHANG Y, ZHANG J, DONG PL, CHEN M, DUAN ZP. (2010). “Probiotic yogurt effects on intestinal flora of patients with chronic liver disease”, **Nurs Res**. 59:426–32.

LIU R. H. (2003). “Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals”, **The American journal of clinical nutrition**, 78(3 Suppl), 517–520.

LIU, Q., LI, F., ZHUANG, Y., XU, J., WANG, J., MAO, X., ZHANG, Y., LIU, X. (2019). “Alteration in gut microbiota associated with hepatitis B

and non-hepatitis virus related hepatocellular carcinoma”, **Gut pathogens**, 11, 1.

LLOYD-PRICE, J., ABU-ALÍ, G., & HUTTENHOWER, C. (2016). “The healthy human microbiome”, **Genome medicine**, 8(1), 51.

LOPEZ, M., F. MARTÍNEZ, C. DEL VALLE, M. FERRÍ AND R. LUQUE. (2003b). “Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method”, **Talanta**, 60: 609–616.

LOPEZ, M., F. MARTÍNEZ, C. DEL VALLE. (2003a). “The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine”, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 43: 233–244.

M. P. CORCORAN, D. L. MCKAY AND J. B. BLUMBERG, (2012). “Flavonoid basics: chemistry, sources, mechanisms of action, and safety”, **J. Nutr. Gerontol. Geriatr**, 31, 176–189.

MACHIËLS K, JOOSSENS M, SABINO J, DE PRETER V, ARIJS I, EECKHAUT V, ET al. (2014). “A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis”, **Gut**, 63:1275–83.

MALARD, F., DORE, J., GAUGLER, B., MOHTY, M. (2021). “Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease”, **Mucosal immunology**, 14(3), 547–554.

MAMMADOVA, G., OZKUL, C., YILMAZ ISI KHAN, S., ACIKGOZ, A., YILDIZ, B. O. (2021). “Characterization of gut microbiota in polycystic ovary syndrome: Findings from a lean population”, **European journal of clinical investigation**, 51(4), e13417.

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. (2004). “Polyphenols: food sources and bioavailability”, **The American journal of clinical nutrition**, 79(5), 727–747.

MARIAT, D., FIRMESSE, O., LEVENEZ, F., GUIMARÃES, V., SOKOL, H., DORÉ, J., CORTHIER, G., FURET, J. P. (2009). “The

- Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age”, **BMC microbiology**, 9, 123.
- MASOOD, M. I., QADIR, M. I., SHIRAZI, J. H., KHAN, I. U. (2011). “Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings”, **Critical reviews in microbiology**, 37(1), 91–98.
- MCDONALD, D., FRANZOSA, E. A., KNIGHT, R., WHITE, O., & HUTTENHOWER, C. (2017). “Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project”, **Nature**, 550(7674), 61–66.
- MEDDAH AT, YAZOURH A, DESMET I, RİSBOURG B, VERSTRAETE W, ROMOND MB. (2001). “The regulatory effects of whey retentate from bifidobacteria fermented milk on the microbiota of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME)”, **J Appl Microbiol**, 91:1110–7.
- MORENO-INDÍAS, I., SÁNCHEZ-ALCOHOLADO, L., PÉREZ-MARTÍNEZ, P., ANDRÉS-LACUEVA, C., CARDONA, F., TÍNAHONES, F., QUEÍPO-ORTUÑO, M. I. (2016). “Red wine polyphenols modulate fecal microbiota and reduce markers of the metabolic syndrome in obese patients”, **Food & function**, 7(4), 1775–1787.
- MORTAŞ, H., BİLİCİ, S., & KARAKAN, T. (2020). “The circadian disruption of night work alters gut microbiota consistent with elevated risk for future metabolic and gastrointestinal pathology”, *Chronobiology international*, 37(7), 1067–1081.
- NİSHİUMİ, S., MİYAMOTO, S., KAWABATA, K., OHNİSHİ, K., MUKAI, R., MURAKAMİ, A., ASHIDA, H., TERAOKA, J. (2011). “Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors”, **Frontiers in bioscience**, 3, 1332–1362.
- NOH H, JANG HH, KİM G, ZOUİOUİCH S, CHO SY, KİM HJ, KİM J, CHOE JS, GUNTER MJ, FERRARİ P, SCALBERT A, FREİSLİNG H. (2021). “Taxonomic Composition and Diversity of the Gut Microbiota in Relation to Habitual Dietary Intake in Korean Adults”, **Nutrients**, 26;13(2):366.

- O'HARA, A. M. ve SHANAHAN, F. (2006). "The gut flora as a forgotten organ", **EMBO reports**, 7(7), 688–693.
- OKELLO, E. J., LEYLABI, R., MCDOUGALL, G. J. (2012). "Inhibition of acetylcholinesterase by green and white tea and their simulated intestinal metabolites", **Food & function**, 3(6), 651–661.
- OZKUL, C., YALINAY, M., KARAKAN, T. (2020). "Structural changes in gut microbiome after Ramadan fasting: a pilot study", **Beneficial microbes**, 11(3), 227–233.
- PAJARES, M., I ROJO, A., MANDA, G., BOSCA, L., CUADRADO, A. (2020). "Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications", **Cells**, 9(7), 1687.
- PALLEJA, A., MIKKELSEN, K. H., FORSLUND, S. K., KASHANI, A., ALLIN, K. H., NIELSEN, T., et al. (2018). "Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure", **Nat. Microbiol**, 3, 1255–1265.
- PANCHE, A. N., DIWAN, A. D., CHANDRA, S. R. (2016). "Flavonoids: an overview", **Journal of Nutritional Science**, 5.
- PANDEY, K. B. ve RIZVI, S. I. (2009). "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease", **Oxidative medicine and cellular longevity**, 2(5), 270–278.
- PARVIN S. (2015). "Nutritional analysis of date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) in perspective of Bangladesh", **Am J Life Sci**, 3:274.
- PASTRANA-BONILLA E, AKOH CC, SELLAPPAN S, KREWER G. (2003). "Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes", **J. Agric. Food Chem**, 51:5497–4503.
- QIN, J., LI, R., RAES, J., ARUMUGAM, M., BURGDORF, K. S., MANICHANH, C., NIELSEN, T., PONS, N., LEVENEZ, F., YAMADA, T., MENDE, D. R., LI, J., XU, J., LI, S., LI, D., CAO, J., WANG, B., LIANG, H., ZHENG, H., XIE, Y., ... WANG, J. (2010). "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing", **Nature**, 464(7285), 59–65.

- QIN, X. Y., CHENG, Y., YU, L. C. (2012). "Potential protection of green tea polyphenols against intracellular amyloid beta-induced toxicity on primary cultured prefrontal cortical neurons of rats", **Neuroscience letters**, 513(2), 170–173.
- QUEIPO-ORTUNO, M. I., BOTO-ORDONEZ, M., MURRI, M., GOMEZ-ZUMAQUERO, J. M. et al. (2012). "Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers", **Am. J. Clin. Nutr**, 95, 1323–1334.
- Quigley E. (2017). "Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases", **Current neurology and neuroscience reports**, 17(12), 94.
- Rajkumar H, Mahmood N, Kumar M, Varikuti SR, Challa HR, Myakala SP. (2014). "Effect of probiotic (VSL#3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial", **Med Inflamm**, 2014:348959.
- RAMIREZ, J., GUARNER, F., BUSTOS FERNANDEZ, L., MARUY, A., SDEPANIAN, V. L., COHEN, H. (2020). "Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota", **Frontiers in cellular and infection microbiology**, 10, 572912.
- RANGEL-HUERTA, O. D., B. PASTOR-VILLAESCUSA, C. M. AGUILERA, A. GIL. (2015). "A systematic review of the efficacy of bioactive compounds in cardiovascular disease: Phenolic compounds", **Nutrients**, 7: 5177–5216.
- RAVISHANKAR, D., RAJORA, A. K., GRECO, F., & OSBORN, H. M. (2013). "Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy", **The international journal of biochemistry & cell biology**, 45(12), 2821–2831.
- REJA, V., KWOK, A., STONE, G., YANG, L., MISSEL, A., MENZEL, C., & BASSAM, B. (2010). "ScreenClust: Advanced statistical software for supervised and unsupervised high resolution melting (HRM) analysis", **Methods**, 50(4), 10–14.

- RIENTH, M., VIGNERON, N., DARRIET, P., SWEETMAN, C., BURBIDGE, C., BONGHI, C., WALKER, R. P., FAMIANI, F., CASTELLARIN, S. D. (2021). "Grape Berry Secondary Metabolites and Their Modulation by Abiotic Factors in a Climate Change Scenario-A Review", **Frontiers in plant science**, 12, 643258.
- RINNINELLA, E., RAOUL, P., CINTONI, M., FRANCESCHI, F., MIGGIANO, G., GASBARRINI, A., MELE, M. C. (2019). "What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases", **Microorganisms**, 7(1), 14.
- RÍVERO-PÉREZ MD, MUNÍZ P, GONZÁLEZ-SANJOSE ML. (2008) "Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine", **Food Chem. Toxicol**, 46:2815–2822.
- RUSSELL WR, GRATZ SW, DUNCAN SH, HOLTROP G, INCE J, SCOBBIÉ L, et al. (2011). "High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health", **Am J Clin Nutr**, 93:1062–72.
- SAIBABU, V., FATIMA, Z., KHAN, L. A., HAMEED, S. (2015). "Therapeutic Potential of Dietary Phenolic Acids", **Advances in pharmacological sciences**, 823539.
- SÁNCHEZ-TAPIA, M., TOVAR, A. R., TORRES, N. (2019). "Diet as Regulator of Gut Microbiota and its Role in Health and Disease", **Archives of medical research**, 50(5), 259–268.
- SCALBERT, A., MANACH, C., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. (2005). "Dietary polyphenols and the prevention of diseases", **Critical reviews in food science and nutrition**, 45(4), 287–306.
- SCHIPPA, S. ve CONTE, M. P. (2014). "Dysbiotic events in gut microbiota: impact on human health", **Nutrients**, 6(12), 5786–5805.
- SCHNORR, S. L., CANDELA, M., RAMPELLI, S., CENTANNI, M., CONSOLANDI, C., BASAGLIA, G., TURRONI, S., BIAGI, E., PEANO, C., SEVERGNINI, M., FIORI, J., GOTTI, R., DE BELLIS, G., LUISELLI, D., BRIGIDI, P., MABULLA, A., MARLOWE, F.,

- HENRY, A. G., CRITTENDEN, A. N. (2014). "Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers", **Nature communications**, 5, 3654.
- SELMA, M. V., ESPÍN, J. C., & TOMÁS-BARBERÁN, F. A. (2009). "Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health", **Journal of agricultural and food chemistry**, 57(15), 6485–6501.
- SERRANO-VILLAR, S., VÁZQUEZ-CASTELLANOS, J. F., VALLEJO, A., LATORRE, A., SAÍNZ, T., FERRANDO-MARTÍNEZ, S., ROJO, D., MARTÍNEZ-BOTAS, J., DEL ROMERO, J., MADRID, N., LEAL, M., MOSELE, J. I., MOTILVA, M. J., BARBAS, C., FERRER, M., MOYA, A., MORENO, S., GOSALBES, M. J., & ESTRADA, V. (2017). "The effects of prebiotics on microbial dysbiosis, butyrate production and immunity in HIV-infected subjects", **Mucosal immunology**, 10(5), 1279–1293.
- SINGH P, RAWAT A, ALWAKEEL M, SHARIF E, AL KHODOR S. (2020). "The potential role of vitamin D supplementation as a gut microbiota modifier in healthy individuals", **Sci Rep**, 10;10(1):21641.
- SINGH, R. K., CHANG, H. W., YAN, D., LEE, K. M., UCMAN, D., WONG, K., ABROUK, M., FARAHNIK, B., NAKAMURA, M., ZHU, T. H., BHUTANI, T., LIAO, W. (2017). "Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health", **Journal of translational medicine**, 15(1), 73.
- SINGLA, R. K., DUBEY, A. K., GARG, A., SHARMA, R. K., FIORINO, M., AMEEN, S. M., ... AL-HIARY, M. (2019). "Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures", **Journal of AOAC International**, 102(5), 1397–1400.
- SOMMER, F. ve BÄCKHED, F. (2013). "The gut microbiota--masters of host development and physiology", **Nature Reviews Microbiology**, 11(4), 227–238.
- SONG, L., YANG, H., WANG, H.X., TIAN, C., LIU, Y., ZENG, X.J., GAO, E., KANG, Y.M., DU, J., LI, H.H., (2014). "Inhibition of 12/15

lipoygenase by baicalein reduces myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of multiple signaling pathways”, **Apoptosis**, 19, 567–580.

SUEZ J, KOREM T, ZEEVÍ D, ZÍLBERMAN-SCHAPIRA G, THAISS CA, MAZA O, et al. (2014). “Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota”, **Nature**, 514:181-6.

SURH, Y. J., HURH, Y. J., KANG, J. Y., LEE, E., KONG, G., LEE, S. J. (1999). “Resveratrol, an antioxidant present in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells”, **Cancer letters**, 140(1-2), 1–10.

ŚWIĄTECKA D, DOMINIKA Ś, NARBAD A, ARJAN N, RIDGWAY KP, KARYN RP, et al. (2011). “The study on the impact of glycated pea proteins on human intestinal bacteria”, **Int J Food Microbiol**, 145:267–72.

TADERA, K., Y. MINAMI, K. TAKAMATSU, T. MATSUOKA. (2006). “Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids”, **J. Nutr. Sci. Vitaminol**, 52: 149–153.

TANGNEY, C. AND H. E. RASMUSSEN. (2013). “Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease”, **Curr. Atheroscler. Rep**, 15: 324–324.

TEOH E. S. (2015). “Secondary Metabolites of Plants”, **Medicinal Orchids of Asia**, 59–73.

THURSBY, E. ve JUGE, N. (2017). “Introduction to the human gut microbiota”, **The Biochemical journal**, 474(11), 1823–1836.

TOME-CARNEIRO, J. AND F. VISIOLI. (2016). “Polyphenol-based nutraceuticals for the prevention and treatment of cardiovascular disease: Review of human evidence”, **Phytomedicine**, 23: 1145–1174.

TUCK, K. L. AND P. J. HAYBALL. (2002). “Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects”, **J. Nutr. Biochem**, 13: 636–644.

TURTA, O. ve RAUTAVA, S. (2016). “Antibiotics, obesity and the link to microbes - what are we doing to our children?”, **BMC Med**, 14, 57.

- TZOUNIS, X., RODRÍGUEZ-MATEOS, A., VULEVIĆ, J., GIBSON, G. R., KWIK-URIBE, C., & SPENCER, J. P. (2011). "Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study", **The American journal of clinical nutrition**, 93(1), 62–72.
- TZOUNIS, X., VULEVIĆ, J., KUHNLE, G. G., GEORGE, T. et al. (2008). "Flavanol monomer-induced changes to the human fecal microflora" **Br. J. Nutr**, 99, 782–792.
- VANDERHOOF, J. A. ve PAULEY-HUNTER, R. (2015). "Small Intestinal Bacterial Overgrowth", **Textbook of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition**, 487–494.
- VUONG, Q. V., HIRUN, S., PHILLIPS, P. A., CHUEN, T. L., BOWYER, M. C., GOLDSMITH, C. D., SCARLETT, C. J. (2014). "Fruit-derived phenolic compounds and pancreatic cancer: perspectives from Australian native fruits", **Journal of ethnopharmacology**, 152(2), 227–242.
- WEBER, J. M., RUZINDANA-UMUNYANA, A., IMBEAULT, L., SIRCAR, S. (2003). "Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins", **Antiviral research**, 58(2), 167–173.
- WIJAYABAHU, A. T., WAUGH, S. G., UKHANOVA, M., & MAI, V. (2019). "Dietary raisin intake has limited effect on gut microbiota composition in adult volunteers", **Nutrition journal**, 18(1), 14.
- WU, G. D., CHEN, J., HOFFMANN, C., BITTINGER, K., CHEN, Y. Y., KEILBAUGH, S. A., BEWTRA, M., KNIGHTS, D., WALTERS, W. A., KNIGHT, R., SINHA, R., GILROY, E., GUPTA, K., BALDASSANO, R., NESSEL, L., LI, H., BUSHMAN, F. D., LEWIS, J. D. (2011). "Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes", **Science**, 334(6052): 105–108.
- XIA, E. Q., DENG, G. F., GUO, Y. J., & LI, H. B. (2010). "Biological activities of polyphenols from grapes", **International journal of molecular sciences**, 11(2), 622–646.

- YAHFOUFI, N., ALSADI, N., JAMBI, M., & MATAR, C. (2018). "The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols", **Nutrients**, 10(11), 1618.
- YAMAKOSHĪ J, TOKUTAKE S, KĪKUCHĪ M. (2001). "Effect of proanthocyanidin- rich extract from grape seeds on human fecal flora and fecal odor", **Microb Ecol Health Dis**, 13: 25–31.
- YANAGAWA, Y., YAMAMOTO, Y., HARA, Y., SHĪMAMURA, T. (2003). "A combination effect of epigallocatechin gallate, a major compound of green tea catechins, with antibiotics on *Helicobacter pylori* growth in vitro", **Current microbiology**, 47(3), 244–249.
- YASSOUR, M., VATANEN, T., SĪLJANDER, H., HAMALAINEN, A. M., HARKONEN, T., RYHANEN, S. J., et al. (2016). "Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability", **Sci. Transl. Med**, 8, 343ra81.
- YATSUNENKO, T., REY, F. E., MANARY, M. J., TREHAN, I., DOMĪNGUEZ-BELLO, M. G., CONTRERAS, M., MAGRĪS, M., HĪDALGO, G., BALDASSANO, R. N., ANOKHĪN, A. P., HEATH, A. C., WARNER, B., REEDER, J., KUCZYNSKĪ, J., CAPORASO, J. G., LOZUPONE, C. A., LAUBER, C., CLEMENTE, J. C., KNĪGHTS, D., KNĪGHT, R., ... GORDON, J. I. (2012). "Human gut microbiome viewed across age and geography", **Nature**, 486(7402), 222–227.
- YOO, J. Y., GROER, M., DUTRA, S., SARKAR, A., MCSKĪMMĪNG, D. I. (2020). "Gut Microbiota and Immune System Interactions", **Microorganisms**, 8(10), 1587.
- ZHAĪ, Q., FENG, S., ARJAN, N., CHEN, W. (2019). "A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*", **Critical reviews in food science and nutrition**, 59(19), 3227–3236.
- ZHAO, L., ZHANG, Q., MA, W., TĪAN, F., SHEN, H., ZHOU, M. (2017). "A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota", **Food & function**, 8(12), 4644–4656.

ZHERNAKOVA, A., KURILSHIKOV, A., BONDER, M. J., TIGCHELAAR, E. F., SCHIRMER, M., VATANEN, T., MUJAGIĆ, Z., VILA, A. V., FALONY, G., VIEIRA-SILVA, S., WANG, J., IMHANN, F., BRANDSMA, E., JANKIPERSADSING, S. A., JOOSSENS, M., CENİT, M. C., DEELEN, P., SWERTZ, M. A., LİFELİNES COHORT STUDY, WEERSMA, R. K., ... FU, J. (2016). "Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity", **Science**, 352(6285), 565–569.

ZHUANG, L., CHEN, H., ZHANG, S., ZHUANG, J., Lİ, Q., FENG, Z. (2019). "Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health", **Genomics, proteomics & bioinformatics**, 17(1), 13–25.

DİĞER KAYNAKLAR

TRAKYA KALKINMA AJANSI. (2014). "Hardaliye Üretimnin Mevcut Durumunu Değerlendirme Raporu.1-16.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. (2004). "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus", **Diabetes Care**. 33:62-69.

MCINNES P. ve CUTTING, M. (2010). "Manual of procedures of Human Microbiome Project Core Microbiome Sampling Protocol A". 1-114.



EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı

EK-B: Beslenme Planı





EK-A: Etik Kurul Kararı



**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARARI**

Sayı : B.30.2.AYD.0.00.00-050.06.04/146
Konu : Çalışmanız hk.

18.07.2019

Sayın, Doç. Dr. Reyhan ÇALIŞKAN

İstanbul Aydın Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 18.07.2019 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 2019/146 nolu karar aşağıda sunulmuştur.
Bilgilerinize sunarım.

Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER
İstanbul Aydın Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı



KARAR 1

Protokol No : 2019/02
Sorumlu Yürütücü : Doç. Dr. Reyhan ÇALIŞKAN
İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi

İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Reyhan ÇALIŞKAN'ın "Hardaliye Tüketiminin Bağırsak Mikrobiyota Modülasyonuna Etkinliği" konulu yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup çalışmanın belirtilen yöntemlerle gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel olarak herhangi bir sakınca olmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Hardaliye Tüketiminin Bağırsak Mikrobiyota Modülasyonuna Etkinliği"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2019/02

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Istanbul Aydın Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Istanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Beşyol Mahallesi, İnönü Cd. No:38, 34295 Küçükçekmece/İstanbul
	TELEFON	+90 (212) 411 61 00 / 29190
	FAKS	+90 (212) 411 62 43
	E-POSTA	iaudhetik@aydin.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	COORDİNATOR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Reyhan ÇALIŞKAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
Diğer ise belirtiniz: Retrospektif arşiv taraması					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ X	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



DEĞERLENDİRİL EN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	08.11.2018	01	Türkçe X	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-	Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU	08.11.2018	01	Türkçe X	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	☐					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ						
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐					
	İLAN	☐					
	YILLIK BİLDİRİM	☐					
	SONUÇ RAPORU	☐					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐					
	DİĞER:	☐					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 146	Tarih: 18.07.2019					
	İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Reyhan ÇALIŞKAN'ın "Hardaliye Tüketiminin Bağırsak Mikrobiyota Modülasyonuna Etkinliği" konulu yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup çalışmanın belirtilen yöntemlerle gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel olarak herhangi bir sakınca olmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir. NOT: Yukarıda belirtilen eksiklikler tamamlandıktan sonra etik kurula sorumlu araştırmacı tarafından belgeler sunulmalıdır.						

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İstanbul Aydın Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesi
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
Prof. Dr. Ahmet Şükrü AYNACIOĞLU	Tıbbi Farmakoloji	İstanbul Aydın Üniversitesi	E X	K ☐	E ☐	H X	E	H	
Prof. Dr. Ayşe Canan YAZICI GÜVERCİN	Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi	İstanbul Aydın Üniversitesi	E ☐	K X	E ☐	H X	E	H	
Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER	Protetik Diş Tedavisi	İstanbul Aydın Üniversitesi	E X	K ☐	E ☐	H X	E	H	
Prof. Dr. Hasan SAYGIN	Makine Müh.	İstanbul Aydın Üniversitesi	E X	K ☐	E ☐	H X	E	H	
Zeynep AKYAR	Hukuk	İstanbul Aydın Üniversitesi	E ☐	K X	E ☐	H X	E	H	
Dr. Öğr. Üyesi Kamil TEMİZYÜREK	Biyofizik	İstanbul Aydın Üniversitesi	E X	K ☐	E ☐	H X	E	H	
Dr. Öğr. Üyesi Murat AKSU	Tıp Tarihi ve Etik	İstanbul Aydın Üniversitesi	E X	K ☐	E ☐	H X	E	H	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Erman Bülent TUNCER
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



EK-B: Beslenme Planı

RANDEVU GÜNÜ VE SAATİNİZ

BESLENME PLANINIZ

SABAH (saat:)

- * 60 g. peynir
- * 1 yumurt
- * 2 ceviz
- * 21D ekme
- * 52 ayın (tuzsuz)

ARA

- * 1 SB st (1000)

ÖĞLE (saat:)

- * 8 Y sebze yemeği
- * 2 kepece sebze yemeği
- * 21D ekme
- * 12 salata

ARA

- 1 SB leblebi / 2 meyve / 1 fincan fındık bala (150)

AKSAM (saat:)

- 387 gyle ile Ayni
- 40 g. tavuk
- 1.111
- 100 g. et
- 12 salata
- 2 kepece sebze yemeği
- 21D ekme
- 4 g. tuz

ARA

ID: ince dilim
SB: su bardağı
kk: kibrit kutusu
YK: yemek kaşığı

...Mutlu, sağlıklı ve formda kalın...

- * Mayali emulyon
- * Protyotikler (kati / sarp / tursu)
- * Organik, eksimayali akreler.
- * Alkol yak
- * gusisk su teketuyi (2 it)

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Silva POLAT SARI

ÖĞRENİM DURUMU:

Lisans: 2004-2008, Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: 2008-2013, Marmara Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Doktora: 2015-Halen, İstanbul Aydın Üniversitesi, Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

MESLEKİ DENEYİM

Ocak 2012-Mayıs 2013: Akın Laboratuvar Cihazları, Ürün ve Aplikasyon Sorumlusu

Şubat 2014-Halen: İstanbul Aydın Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Öğretim Görevlisi

