



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YÜKSEK YAĞLI DİYET İLE BESLENEN FARELERDE DİYET
GLUTENİNİN VÜCUT AĞIRLIĞI VE MİKROBİYOTAYA
ETKİSİ**

MERVE SAYIN

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi NİHAL ZEKİYE ERDEM

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. EMEK DÜMEN

İSTANBUL - 2021

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Beslenme ve Diyetetik
Tez Sahibi : Merve SAYIN
Tez Başlığı : Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Obez Farelerde Diyet
Gluteninin Vücut Ağırlığı ve Mikrobiyotaya Etkisi
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Güney Kampüsü
Sınav Tarihi : 06.01.2021

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Kurumu

İmza

Dr.Öğr.Üyesi Nihal Zekiye ERDEM İstanbul Medipol Üniversitesi

Sınav Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Nihal BÜYÜKUSLU İstanbul Medipol Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Rabia İclal ÖZTÜRK İstanbul Medipol Üniversitesi

Doç.Dr. Emek DÜMEN İstanbul Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Üyesi Serap A.ÖZTÜRK İstanbul Aydın Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../ tarih ve/..... - sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür V.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Merve SAYIN

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında bana yardım eden, bilgi birikimini içten ve özverili bir Şekilde paylaőan, manevi desteğinin her zaman yanımda olduğunu hissettiğim değerli tez danıőmanlarım Doç. Dr. Emek DÜMEN hocama ve Dr. Öğr. Üyesi Nihal Zekiye ERDEM hocama,

Eğitim hayatım boyunca yükselmem için canı gönülden beni destekleyen, her koşulda yanımda olan ve başarılı olacağıma inanan annem Gülten SAYIN, kardeőim Ali SAYIN ve babam Bilal SAYIN'a,

Tezimin hazırlık aşamasında bana destek olan, yardım eden ve yanımda olan sevgili meslektaőlarım ve arkadaőlarım Stj. Dyt. Begüm EREN, Uzm. Dyt. Deniz DERYA'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER.....	ix
RESİMLER	x
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER.....	8
4.1. Gluten Nedir, Yapısı Nasıldır?.....	8
4.2. Glutenin Obezite ve Hastalıklarla İlişkisi	10
4.3. Gluten ve Mikrobiyota	15
4.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve Obezite.....	20
5. MATERYAL VE METOT	25
5.1 Araştırma Yeri ve Örneklem Seçimi.....	25
5.2 Çalışmanın Genel Planı.....	25
5.3. Antropometrik Ölçümler	26
5.4. Uygulanan Diyet Müdahalesi.....	26
5.5. Etken İzolasyon ve İdentifikasyon Prosedürü.....	29
5.5.1. <i>Lactobacillus spp</i> :	29
5.5.2. Toplam Koliform Grubu Bakteri	30
5.5.3. <i>Escherichia coli</i> :	30
5.6. DNA Ekstraksiyonu	33
5.7. PCR	33
5.8. Elektroforez.....	34
5.9. İstatistik Analizler	34
5.10. Çalışmada Karşılaşılan Güçlükler ve Sınırlılıklar.....	35

6. BULGULAR.....	36
6.1. Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	36
6.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı Değerlendirilmesi	36
6.3. <i>Lactobacillus spp.</i> Parametresi	37
6.4. Toplam Koliform Grubu Bakteri Sayısı Değerlendirilmesi.....	38
6.5. <i>Esheria coli</i> Parametresi Değerlendirilmesi.....	39
6.7. PCR	41
7. TARTIŞMA	43
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
8.1. Sonuç.....	47
8.2. Öneriler	47
9. KAYNAKLAR	49
10. ETİK KURUL ONAYI.....	62
11. ÖZGEÇMİŞ.....	65

KISALTMALAR

ATP	Adenozin Trifosfat
BAIBA	β -Aminoizobutirik Asit
BKİ	Beden Kütle İndeksi
CHO	Karbonhidrat
CH	Crohn Hastalığı
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostatik Model Değerlendirme-İnsülin Direnci
g	Gram
GALT	Galaktoz-1-Fosfat Üridil Transferazın
GPR	G-protein bağlı reseptörler
IL	İnterlökin
kg	Kilogram
Kkal	Kilokalori
İBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
mg	Miligram
NHANES	Amerikan Ulusal Sağlık ve Beslenme Çalışması
PPAR	Peroksizom Proliferatör İle Aktive Edilmiş Reseptör
PYY	Peptit YY
TNF	Tümör Nekroz Konsantrasyonu
UCP 1	Uncoupling Protein 1
ÜK	Ülseratif Kolit

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.3. 1. Glutensiz diyetin çölyak hastalığında bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisine ilişkin temel bulgular	18
Tablo 4.4. 1. Obez bireylerin bağırsak bakterilerinde artış/azalış.....	23
Tablo 5.4. 1. Uygulanan standart yemdeki makrobesinler.....	26
Tablo 5.4. 2. Uygulanan standart yemdeki ham besinler ve nem.....	26
Tablo 5.4. 3. Deney gruplarına uygulanan diyet müdahalesi.....	27
Tablo 5.4. 4. Buğday gluteninin içeriği (100 gram).....	27
Tablo 5.4. 5. Buğday gluteninin aminoasit bileşimi (mg/g).....	27
Tablo 5.7. 1. Çalışmamızda kullanılması planlanan primer setleri ve özellikleri.....	33
Tablo 6. 1. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Deneklerin canlı ağırlık parametresi açısından grupların ikili ilişkileri.....	36
Tablo 6. 2. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı parametresi açısından grupların ikili ilişkileri	37
Tablo 6. 3. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): <i>Lactobacillus spp.</i> parametresi açısından grupların ikili ilişkileri	38
Tablo 6. 4. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Toplam koliform grubu bakteri sayısı parametresi açısından grupların ikili ilişkileri.....	39
Tablo 6. 5. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): <i>Esheria coli</i>	

parametresi açısından grupların ikili ilişkileri 40



ŞEKİLLER

Şekil 4.1. 1. Buğday bileşenlerinin yaklaşık olarak analizi 10

Şekil 4.4. 1. Bağırsak mikrobiyotasının fizyolojisi ve obezitenin gelişimi.....24



RESİMLER

Resim 5. 1. Glutenin asetik asit içinde çözülmüş hali	28
Resim 5. 2. Farelerin ağırlığının ölçülmesi	28
Resim 5. 3. Toplanan dışkı örnekleri.....	29
Resim 5. 4. MRS agarda üreyen <i>lactobasiller</i>	31
Resim 5. 5. TBX agarda üreyen <i>E. Coli</i>	31
Resim 5. 6. Nutrient agarda üreyen enterokoklar	32
Resim 5. 7. VRB agarda üreyen koliform grubu bakteriler.....	32
Resim 6. 1. <i>Esheria coli</i> suşlarının amplifiye PCR ürünlerinin agaroz jel elektrofez görüntüsü.....	41
Resim 6. 2. <i>Lactobacillus spp.</i> amplifiye PCR ürünlerinin agaroz jel elektrofez görüntüsü.....	42

1. ÖZET

YÜKSEK YAĞLI DİYET İLE BESLENEN FARELERDE DİYET GLUTENİNİN VÜCUT AĞIRLIĞI VE MİKROBİYOTAYA ETKİSİ

Buğday gluteni sindirilebilir olması ve bağırsak immünesinin modülasyonunda rol oynadığı bilinen amino asitlerin (glutamin, glutamik asit) kaynağı olması nedeniyle birçok memeli için iyi bir diyet protein kaynağı olarak kabul edilmektedir. Gluten tüketimi bugüne kadar birçok farklı rahatsızlık ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan en yaygın olanı ve en bilineni çölyak hastalığıdır. Fakat günümüzde, gluten tüketimi çölyak hastalığı dışında da bazı nörolojik rahatsızlıklar, depresyon, otizm, obezite gibi farklı sağlık problemleri ile ilişkilendirilmektedir. Glutensiz diyetin yaygınlığı artmakta, son on yılda, Amerika Birleşik Devletleri'nde neredeyse her üç kişiden biri, gluteni diyetlerinden çıkarmaya çalışmaktadır. Glutensiz diyetlerin kilo kontrolünde yaygın kullanımına rağmen, gluten ile obezite arasındaki ilişki hala tutarsızdır ve literatürde çok az kontrollü çalışma vardır. Bu çalışma yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde gluten tüketiminin vücut ağırlığı ve mikrobiyotaya etkisini saptamak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, 25 adet BALB/c fare kullanılmıştır. Fareler rastgele standart diyetin verildiği kontrol grubu (Grup 1), standart diyet ile 5 mg/gün glutenin verildiği (Grup 2), yüksek yağlı diyetin verildiği (Grup 3), yüksek yağlı diyet ile 5 mg/gün glutenin verildiği (Grup 4) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Her bir deneğin canlı ağırlığı haftalık periotlarda ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Mikrobiyota analizleri için, her bir kafes gecedan değiştirilerek haftada bir kez kafeslerden dışkı toplanmıştır. Mikrobiyota analizleri 16s rRNA yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada gluten ve yüksek yağlı diyet uygulamalarının kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı derecede kilo kazanımına neden olduğu saptanmıştır ($p<005$). Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı parametresi açısından gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>005$). *Lactobacillus bulgaricus* parametresi için diyetlere gluten eklenmesinin söz konusu mikrobiyolojik parametre ile pozitif yönde (gluten etkenin üremesini stimüle etmektedir) istatistik açıdan anlamlı olacak şekilde etkili olduğu elde edilmiştir ($p<005$). Yüksek yağlı diyet uygulamasının, bağırsakta bulunan toplam koliform grubu bakterilerinin üremesini engelleyici özellikte olduğu saptanmıştır ($p<005$). Gluten içeren diyet

uygulamalarının, bağırsaktaki toplam koliform grubu bakteri üremesi üzerine negatif anlamda etkili olduğu bulunmuştur ($p<005$). Yüksek yağ ile diyet uygulamasının bağırsakta bulunan *Esherichia coli* üremesini engelleyici özellikte bir etkiye sahip olduğu elde edilmiştir ($p<005$). Gluten içeren diyet uygulamalarının, bağırsaktaki toplam *Esherichia coli* sayısı parametresinin üremesi üzerine negatif anlamda etkili olduğu görülmüştür ($p<005$). Glutensiz diyetin kullanıldığı durumlarda, mikrobiyotaya pozitif etkisi bulunan probiyotiklerin ve prebiyotiklerin beslenmeye eklenmesi önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Beslenme, gluten, mikrobiyota, vücut ağırlığı, yüksek yağlı diyet



2. ABSTRACT

EFFECT OF DIET GLUTEN ON BODY WEIGHT AND MICROBIOTA IN MICE FEED WITH HIGH-FAT DIET

Wheat gluten is considered a good dietary protein source for many mammals, as it is digestible and a source of amino acids (glutamine, glutamic acid) known to play a role in the modulation of intestinal immunity. Gluten consumption has been associated with many different ailments to date. The most common and well-known of these is celiac disease. However, today, gluten consumption is associated with different health problems such as some neurological disorders, depression, autism and obesity besides celiac disease. The prevalence of the gluten-free diet is increasing, with nearly one in three people in the United States trying to eliminate gluten from their diet in the last decade. Despite the widespread use of gluten-free diets in weight control, the relationship between gluten and obesity is still inconsistent, and there are few controlled studies in the literature. This study was conducted to determine the effect of gluten consumption on body weight and microbiota in mice fed a high-fat diet. In the study, 25 BALB/c mouse strains were used. The mice were randomly given the standard diet (Group 1), 5 mg/day gluten was given with a standard diet (Group 2), high-fat diet (Group 3), 5 mg/day gluten was given with a high fat diet (Group 4) divided into 4 groups. The body weight of each subject was measured and recorded in weekly periods. For microbiota analysis, each cage was changed overnight and feces were collected from cages once a week. Microbiota analyzes were analyzed using the 16s rRNA method. In the study, it was determined that gluten and high fat diet applications caused statistically significant weight gain compared to the control group ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of total mesophilic aerobic bacteria count parameter ($p > 0.05$). For the *Lactobacillus bulgaricus* parameter, adding gluten to the diets was found to be statistically significant in a positive way (in the direction of stimulating the growth of the agent by gluten) with the microbiological parameter in question ($p < 0.05$). It has been determined that diet with high fat prevents the growth of bacteria from the total number of coliform groups in the intestine ($p < 0.05$). It has been found that diet applications containing gluten have a negative effect on the growth of the parameter of total coliform group bacteria in the intestine ($p < 0.05$). It has been found that diet with high

fat has an effect preventing the growth of *Esherichia coli* in the intestine ($p < 0.05$). It has been observed that diet practices containing gluten have a negative effect on the growth of the parameter of total *Esherichia coli* in the intestine ($p < 0.05$). In cases where a gluten-free diet is used, it may be recommended to add probiotics and prebiotics that have a positive effect on the microbiota.

Key words: Nutrition, gluten, microbiota, body weight, high fat die



3. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikrobiyota, gastroenterik tüp, cilt, ağız, solunum sistemi ve vajina gibi insan vücudunun farklı bölgelerinde yaşayan bakteri, virüs, protozoa ve mantarlardan oluşan karmaşık bir mikroorganizma ekosistemini, mikrobiyom ise bu mikrobiyal türlerin tamamının genetik içeriğini ifade etmektedir. Bakterilerin baskın taksonomik grubu oluşturduğu mikrobiyota yaklaşık 1.5 kilogram ağırlığındadır ve bunun, konakçı hücrelerin on katını aşan bir sayı olan 100 trilyondan fazla mikroorganizmadan oluştuğuna inanılmaktadır (Sender R ve ark. 2016, Yan J ve Charles JF, 2018).

Mikrobiyotanın %70' inden fazlası, gastrointestinal sistemde, konağı ile karşılıklı olarak yararlı bir ilişki içinde yaşamakta ve gastrik lümenin ince bağırsağa kadar maksimum konsantrasyona ulaştığı kolon/ rektuma kadar sürekli olarak artmaktadır (Palmer C ve ark. 2007, Pingitore A ve ark. 2017, Bäckhed F ve ark. 2015). Bağırsak habitatı, yaklaşık 500 ila 1000 farklı mikroorganizma türü içerir, her bireyin kendi bakteriyel parmak izi vardır yani bu habitat bireyler arasında geniş değişkenliğe sahiptir (Bäckhed F ve ark. 2012).

Mikrobiyotanın gelişimi doğumdan hemen sonra gerçekleşir ve orijinal bileşimi, doğal veya artikal olsun, doğum türü (doğal ve sezaryen doğum), erken yaşam beslenmesi, çeşitli genetik ve çevresel faktörler tarafından güçlü bir şekilde etkilenir (Palmer C ve ark. 2007, Pingitore A ve ark. 2017, Bäckhed F ve ark. 2015).

İnsan bağırsak mikrobiyotasının çeşitli metabolik, beslenme, fizyolojik ve immünolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir ve son yıllarda daha önce gözden kaçan bu organı inceleme tekniklerinde hızlı bir gelişme görülmektedir (Ottman N ve ark. 2012).

İnsan bağırsak mikrobiyotası, konakçının tüm ömrü boyunca konakçı sağlığını etkileyen çoklu etkileşimlere girmektedir. Çok çeşitli faktörler mikrobiyota dengesinde kaymalara neden olabilir, böylece bağırsak mikrobiyota homeostazını bozabilir ve disbiyozis durumuna neden olabilir. Sadece “normal” veya sağlıklı bir mikrobiyotanın doğru bir tanımının bulunmaması nedeniyle, disbiyozun kesin anlamı

konusunda da tartışmalar vardır. Disbiyoz genellikle zararlı etkilerle ilişkilidir ve obezite, diyabet ve inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) gibi hastalıklara yol açan uzun vadeli sonuçlara neden olabilir (Mancabelli L ve ark. 2017, Spor A ve ark. 2011).

Bağırsaklarda faydalı bakterilerin (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* ve *Torulopsis*) azalıp zararlı bakterilerin (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Leuconostoc* sp., *Enterobacter* sp., *L. plantarum*, ve *L. helveticus*) artması olarak adlandırılan mikrobiyal disbiyozisin diyabet, obezite, otizm, gastrik kanser, otoimmün hastalıklar, metabolik sendrom ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Yılmaz K ve Altındış M, 2017, Altuntaş Y ve Batman A, 2017).

Diyet, bağırsak mikrobiyotasının bileşiminin belirlenmesinde de önemli bir faktördür. Makrobesin (karbonhidrat, protein, yağ) kalitesi ve bileşimi, enerji dengesinin ve bağırsak mikrobiyotasının önemli belirleyicileridir (McAllan L ve ark. 2014). Diyet proteininin tavsiye edilen seviyelerde tüketilmesi, doyumluğu ve kilo yönetimini teşvik etmek için potansiyel bir strateji olarak kabul edilmektedir, ancak farklı diyet kaynaklarından alınan proteinin obezite gelişimini ve bağırsak mikrobiyotasını nasıl etkilediği bilinmemektedir (Ijaz MU ve ark. 2018).

Buğday gluteni sindirilebilir olması ve bağırsak immünesinin modülasyonunda rol oynadığı bilinen amino asitlerin (glutamin, glutamik asit) kaynağı olması nedeniyle birçok memeli için iyi bir diyet protein kaynağı olarak kabul edilmektedir (Ruth MR ve Field CJ, 2013).

Gluten tüketimi bugüne kadar birçok farklı rahatsızlık ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan en yaygın olanı ve en bilineni çölyak hastalığıdır. Fakat günümüzde, gluten tüketimi çölyak hastalığı dışında da bazı nörolojik rahatsızlıklar, depresyon, otizm, obezite gibi farklı sağlık problemleri ile ilişkilendirilmektedir (Biesiekierski JR ve ark. 2013).

Glutensiz diyetin yaygınlığı artmakta, son on yılda, Amerika Birleşik Devletleri'nde neredeyse her üç kişiden biri, gluteni diyetlerinden çıkarmaya

çalışmaktadır. Bunun nedenlerinden birisinin de, gluten içermeyen diyetlerin genel sağlık için yararlı olduğu ve daha hızlı kilo kaybı sağladığı konusunda oluşturulan kamuoyu inancı olduğu düşünülmekte, 2016'da 15.5 milyar dolarlık glutensiz diyet pazarının önümüzdeki yıllarda daha da büyüyeceği öngörülmektedir (Bektaş A ve Özel M, 2018). Glutensiz diyetlerin kilo kontrolünde yaygın kullanımına rağmen, gluten ve obezite arasındaki ilişki hala tutarsızdır ve literatürde çok az kontrollü çalışma vardır (Freire RH ve ark. 2015).

Glutensiz diyetin mikrobiyota üzerine etkisine bakılan çalışmalarda, genel olarak sağlıklı bakteri popülasyonlarının azaldığı (*Bifidobacterium*, *B. longum* ve *Lactobacillus*) gösterilmiş, potansiyel olarak sağlıksız bakteri popülasyonlarının özellikle *E. coli* ve total *Enterobacteriaceae* sayısında artışlar tespit edilmiştir (Sanz Y, 2010, De Palma G ve ark. 2009).

Bu çalışma, gluten tüketiminin vücut ağırlığı ve bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Gluten Nedir, Yapısı Nasıldır?

Buğday, dünya çapında yetiştirilen, tüketilen ve ticareti yapılan dünyanın en önemli gıda ürünlerinden biridir. Buğday çekirdeği %8 ila %15 protein içermektedir, bunlardan %10 ila %15'i albümin/ globulin ve %85 ila %90'ı glutendir (Şekil 4.1.1.). Gluten, nişasta granüllerini ve suda çözünür bileşenleri uzaklaştırmak için buğday hamuru yıkandığında kalan lastik kütle olarak tanımlanabilmektedir (Wieser H, 2007).

Gluten, başta gliadin ve glutenin olmak üzere karmaşık bir protein karışımıdır. Gluten, monomer olarak mevcut olan veya zincirler arası disülfür bağları ile bağlı olan oligo- ve polimerler olarak yüzlerce protein bileşeni içermektedir. Farklı buğday çeşitleri, protein içeriğine ve gluten proteinlerinin bileşimine ve dağılımına göre değişmektedir (Wieser H, 2007). Toplu olarak, gliadin ve glutenin proteinleri, suda çözünmeyen, ancak sulu etanolde ekstrakte edilebilen ve yüksek seviyelerde glutamin (%38) ve prolin kalıntıları (%20) ile karakterize edilen tohum proteinlerini temsil eden prolaminler olarak adlandırılmaktadır. Gluten proteinleri, kükürt içeriği ve moleküler ağırlık dahil olmak üzere temel farklılıklara bağlı olarak alt gruplara ayrılabilen ve daha sonra farklı birincil yapılarına göre alfa, beta, gama ve omega (α , β , γ ve ω) gliadinlere ayrılabilir. Bireysel gluten proteinleri, bu proteinlerin yapısı ve etkileşimi ile birlikte glutenin benzersiz özelliklerine katkıda bulunan güçlü kovalent ve kovalent olmayan kuvvetlerle bağlanmaktadır (Shewry PR ve Lookhart GL, 2003).

Gluten, en bol ve en yaygın şekilde dağıtılan gıda bileşenlerinden biridir ve buğday, çavdar, arpa, yulaf, bulgur, kamut ve tritikale gibi tahılların melezlerinde bulunabilmektedir (Bascuñán KA ve ark. 2018).

Gluten protein fraksiyonu, gıda işlemede kullanılan benzersiz yapı oluşturma özelliklerini sergilemektedir. Bu yapı oluşturma özellikleri, gluten esasen “tutkal” ın Latince çevirisi olduğundan terminolojiye de yansımaktadır (El-Chammas K ve Danner E, 2011). Buğday unu içindeki gluten, uygun hidrasyon ve karıştırma ile üç boyutlu bir protein ağı oluşturmada, bu ağ oluşturma özellikleri, viskoelastik hamur

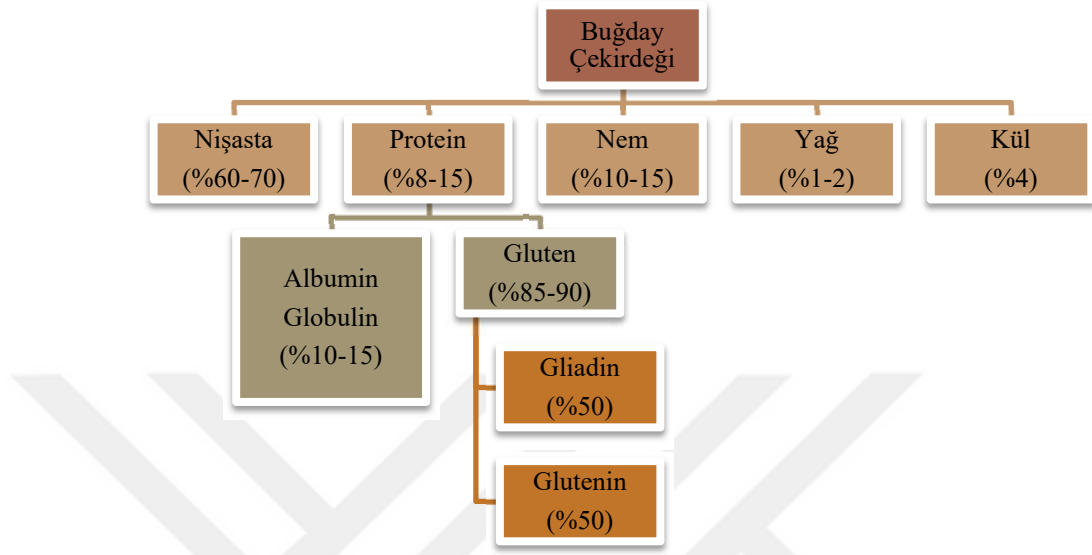
matrisleri oluşturmak için pişirme uygulamalarında kullanılmaktadır. Ağ oluşumunun yanı sıra gıdalardaki gluten işlevselliği, gluteni yaygın olarak kullanılan bir gıda katkı maddesi yapan su bağlama ve viskozite verimini içermektedir (Wieser H, 2007).

Gluten matrisi ve bunun sonucunda ortaya çıkan işlevler, ekmek, makarna, kek, hamur işleri ve bisküvi gibi diğer pişmiş ürünlerin hamur kalitesini belirlemek için gereklidir. Gluten ısıya dayanıklı olmasının yanı sıra bağlayıcı ve uzatıcı bir ajan olarak hareket etme kapasitesine sahiptir ve işlenmiş gıdalarda gelişmiş doku, lezzet ve nem tutma için yaygın olarak bir katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, daha az belirgin gluten kaynakları arasında işlenmiş et, sulandırılmış deniz ürünleri ve vejetaryen et ikameleri yer almakta ayrıca gluten; şekerleme, dondurma, tereyağı, baharatlar, dolgular, marinatlar ve soslarda, koyulaştırıcı, emülgatör veya jelleştirici madde olarak; ilaçlarda veya şekerlemelerde, dolgu maddeleri ve kaplamalar olarak kullanılabilir. Ek olarak, gluten, endüstriyel unlu mamullerin yapısal bütünlüğünü iyileştirmek ve düşük proteinli unları güçlendirmek için buğdaydan ("hayati buğday gluteni" olarak bilinir) giderek daha fazla ayrılmakta veya belirli kullanımlar için ("izole buğday proteinleri" olarak bilinir) modifiye edilmektedir (Kucek LK ve ark. 2015).

Glutenin alışılmadık reolojik ve fonksiyonel özellikleri, gluteninlerin gliadinlere oranına ve bu yapıların etkileşimlerine bağlıdır. Her bileşen, viskoelastik özelliklerin (ekmek mayalanması sırasında açığa çıkan karbondioksitin sıkışması) ve son ürünün kalitesinin belirlenmesinde çok az farklı işlevlere sahiptir. Örneğin, saflaştırılmış hidratlı gliadinler, hamurun viskozitesine ve uzayabilirliğine daha fazla katkıda bulunurken, hidratlanmış gluteninler yapışma özelliğine sahiptir ve hamur mukavemetine ve esnekliğine katkıda bulunmaktadır (Wieser 2007).

Buğday, yüksek besinsel özellikleri, teknolojik özellikleri ve uzun raf ömrü nedeniyle önemli bir temel gıdadır. Buğday, çeşitli besinler için iyi bir kaynaktır ve insan kolonik mikroflorası için, konakçıya önemli faydalar sağlayan fermente edilebilir bir substrattır. Buğday, tüm günlük öğünlerin temelini oluşturabilmekte ve dünya çapında büyük miktarlarda tüketilmektedir. Genel popülasyonda gluten alımı

ile ilgili bilgiler azdır, çünkü gıda ürünlerinin gluten içeriği hakkında ayrıntılı bilgi eksikliği bulunmaktadır.



Şekil 4.1. 1. Buğday bileşenlerinin yaklaşık olarak analizi

Batı diyetinde günlük ortalama gluten alımının 5 ila 20 g/gün arasında değiştiği düşünülmekte olup, en son verilerin ulusal bir Danimarka anketinden geldiği ve 20-75 yaşları arasındaki yetişkinler için ortalama 10,4 g/gün toplam gluten alımı olduğu görülmektedir (Hoppe C ve ark. 2015). Buğday içeren ekmek başlıca gluten kaynaklarımızdan biri olsa da (her dilim ekmek yaklaşık 4 g gluten içerir), tahıl teknolojisindeki değişikliklerle glutene maruz kalmanın artabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmaktadır (Shewry PR, 2009).

4.2. Glutenin Obezite ve Hastalıklarla İlişkisi

Buğday içeren ürünlerin tüketiminin azaltılması dünya çapında yaygınlaşmakta olan bir beslenme davranışı haline gelmektedir. Çölyak hastalığı dışındaki hastalıkların önlenmesi için bir seçenek olarak glutenin diyetten çıkarılması (birçok tahılda bulunan protein kompleksi) önerilmiştir. Varsayılan sağlık yararları için buğday ve glutenden kaçınan insan sayısında artış saptanmıştır. Glutensiz diyetin,

çeşitli cilt problemleri, yorgunluk ve migren, obezite, diyabet, insülin direnci, romatoid artrit, kilo alımı, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), Crohn hastalığı (CH), irritabl bağırsak sendromu (İBS) ve ülseratif kolitin (ÜK) önlenmesi veya tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmektedir (Biesiekierski JR ve ark. 2013, Soares FLP ve ark. 2013, Menta PLR, 2019). Glutensiz diyet, anti-obezite, anti-enflamatuvar ve anti-diyabetik bir strateji olarak kullanılmaktadır (Soares FLP ve ark. 2013).

Diyet gluteninin vücut ağırlığı üzerindeki etkilerinin, yağ dokusu üzerinde doğrudan etkiden kaynaklanıp kaynaklanmadığı veya gastrointestinal sistemdeki varlığından kaynaklanan sistemik inflamatuvar profilin bir sonucu olup olmadığı açık değildir (Freire RH ve ark. 2015). Gluten peptid gliadinin, bağırsak geçirgenliğini arttırdığını, bu durumun glutenin, ekstra bağırsak organlarına ulaşmasına ve enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu değiştirmesine neden olduğu saptanmıştır (Drago S ve ark. 2006).

Farelerde yüksek yağlı diyetle gluten eklenmesinin sonuçlarına bakılan bir çalışmada, aynı enerji alımına sahip olmasına rağmen, gluten ile beslenen farelerde, ilgili kontrollerine kıyasla artmış vücut ağırlığı ve yağ birikintileri olduğu saptanmıştır. Açlık durumunda, farelerde gluten alımının, glutensiz beslenen farelere kıyasla VO₂ ve enerji harcamasını azalttığı, bu durumun da termojenezi azalttığı düşünülmüştür. Gluten içeren diyet ile beslenen farelerden alınan tüm yağ dokularında uncoupling protein 1 (UCP1) ve kemik morfogenetik proteini 7 (KMP7) ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (Freire RH ve ark. 2015).

Kahverengi yağ doku, yüksek miktarda mitokondri ve termogenin ekspresyonu ile ilişkilidir (Cannon B ve Nedergaard J, 2004). Termogenin ekspresyonu, adenosin trifosfat (ATP) sentezini engelleyerek, enerjinin ısı oluşumu şeklinde açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu protein obezitenin gelişimi ile negatif ilişkilidir ve UCP 1'in uyarılması farelerde obeziteyi önlemektedir (Kopecky J ve ark. 1995). KMP7 proteini, ortam sıcaklığına bakılmaksızın, beyaz yağ dokusunun yoğun "kahverengileşmesine" neden olur (Boon MR ve ark. 2013).

Glutensiz diyet ile beslenen hayvanların, yağ dokusunda peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör alfa (PPAR- α), lipoprotein lipaz, hormona duyarlı lipaz ve karnitin palmitoil transferaz-1'in yukarı regülasyonu ile ilişkili, kilo alımında ve adipozitede bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, yağ dokusunda tümör nekroz konsantrasyonu (TNF), interlökin (IL) -6 ve IL-10 ekspresyonu ve konsantrasyonunun arttığını ve yüksek yağlı diyetin glutenle verilmesinin, farelerde daha yüksek bir pro-inflamatuar etkiye neden olduğu; glutensiz diyetlerin yağlanma, iltihaplanma ve insülin direncini azaltmada yararlı etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir (Soares FL ve ark 2013).

Lipit metabolizmasında ve enerji homeostazında önemli bir rol oynayan PPAR- α 'nın aşağı regülasyonu sırasıyla, yağ asidi oksidasyonu ile ilgili genleri (Lee JY ve ark. 2011) ve hormon sensitiv lipaz (HSL) ekspresyonunu (Deng T ve ark. 2006) azaltmaktadır. Adipositlerden adiponektin salınımının azalmasına PPAR- α 'nın azalması neden olmaktadır (Maeda N ve ark. 2001). Adiponektin bir anti-enflamatuar adipokindir ve seviyeleri viseral yağ birikimi ile negatif korelasyon göstermektedir. Kanıtlar adiponektinin, obezite bağlantılı metabolik disfonksiyona karşı koruduğunu göstermektedir. İnflamasyonda merkezi bir role sahip olan pro-enflamatuar sitokinler (IL-6 ve TNF) ve bunların salgılanmasının artması, obezitede metabolik disfonksiyona katkıda bulunmaktadır (Ouchi N ve ark. 2011). Kas ve yağda insülin reseptör tirozin kinazı inhibe eden TNF, obezite ile ilişkili sistemik insülin direncine katılmaktadır (Hotamisligil GS ve ark. 1994).

Farklı idrar metabolitleri arasında, düşük gluten diyetinden sonra β -aminoizobutirik asitin (BAIBA), yüksek glutenli diyet periyoduna kıyasla arttığı saptanmıştır (Hansen LBS ve ark.2018) ve BAIBA'nın beyaz yağ dokusunun esmerleşmesini tetiklemesi ve hepatik yağ oksidasyonunu artırması yoluyla buna sebep olduğu düşünülmektedir (Roberts LD ve ark. 2014). İdrar konsantrasyonlarında BAIBA'nın artması ve peptit YY'nin (PYY) artmış postprandiyal plazma seviyeleri, düşük gluten diyeti alımının, termojenezi veya yağ oksidasyonunu değiştirerek enerji homeostazını modüle ettiğini göstermektedir (Hansen LBS ve ark.2018).

Sindirilmemiş protein mikrobiyal fermantasyona uğrar, kısa zincirli yağ asitleri, amonyak azotu, mikrobiyal ham protein gibi bir dizi metabolit üretilir. Bunlar arasında KZYA, asetat, propionat ve bütirat bulunmaktadır. Asetatın, sindirime yardımcı olmak için mide suyunun salgılanmasını teşvik edebilmek, düşük kolesterole neden olmak, kan damarlarını genişletmek, ateroskerozu geciktirmek gibi faydaları bulunmaktadır; propionat kolesterol sentezini inhibe edebilmektedir; bütirat önemli bir enerji kaynağı olarak kabul edilmekte ve kolon hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunmaktadır (Liang TT ve ark. 2019).

Fermantasyon sırasında bağırsak mikrobiyotası tarafından sentezlenen kolonik kısa zincirli yağ asitlerinin, aşırı kilolu erkeklerde plazma PYY seviyelerini, yağ oksidasyonunu ve enerji harcamalarını arttırdığı belirtilmiştir (Canfora EE ve ark. 2017).

Açlık plazma PYY konsantrasyonları, insanlarda çeşitli yağlanma ve istirahat metabolizma hızı belirteçleri ile negatif ilişkilendirilmiştir (Guo Y ve ark. 2006) ve uzun süreli yüksek PYY konsantrasyonları, farelerde gelişmiş termojenez ile ilişkili olarak belirtilmiştir (Boey D ve ark. 2008).

Örneğin yapılan bir çalışmada, yüksek ve düşük gluten içeren diyetlerin etkisi kıyaslanmış, yüksek gluten müdahalesiyle karşılaştırıldığında kalori alımında iki grup arasında fark olmadığı halde düşük gluten müdahalesinden sonra vücut ağırlığında azalma ve standartlaştırılmış öğüne yanıt olarak PYY'nin postprandiyal plazma konsantrasyonlarında bir artış olduğu saptanmıştır (Hansen LBS ve ark.2018).

Çölyak hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, glutensiz diyetin, vücut kütle indeksi (VKİ) üzerinde yararlı bir etkisinin olduğu, başlangıçta zayıf hastaların glutensiz diyet sonrası kilo aldığı ve aşırı kilolu/ obez hastaların glutensiz diyet sonrası kilo verdiği saptanmıştır (Cheng J ve ark. 2010).

Yöntemler Veriler Amerikan Ulusal Sağlık ve Beslenme Çalışması (NHANES) 2009-2014'ten elde edilen bilgilere göre; glutensiz diyet uygulayanların,

beden kütle indekslerinin ve bel çevrelerinin daha küçük olduğu, HDL kolesterollerinin daha yüksek olduğu ayrıca bir yıl içinde belirgin bir şekilde kendi kendine bildirilen kilo kaybı olduğu saptanmıştır (Kim H ve ark. 2017).

Hayvan çalışmalarından elde edilen son verilerde, yüksek yağlı bir diyet eklendiğinde gluten veya gliadinin adipoziteyi arttırdığı ve glikoz homeostazını bozduğu gösterilmektedir (Soares FL ve ark. 2013, Freire RH ve ark. 2016, Zhang L ve ark. 2017). Ayrıca buna bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve aktivitesindeki değişiklikler eşlik etmektedir (Zhang L ve ark. 2017). Gluten eklenen batı diyeti ile beslenen farelerin, en yüksek vücut ağırlığı kazanımına, adipozitesine ve daha büyük adipozit boyuta sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca batı tarzı beslenmeye gluten eklendiğinde, açlık hipergliseminin, kontrol diyetine kıyasla önemli ölçüde arttığı da saptanmıştır (Olivares M ve ark. 2019). Glutenin hayvan modellerinde tip 1 diyabet vakalarını arttırdığı bazı çalışmalarla desteklenmiştir (Hansen CHF ve ark. 2014, Funda DP ve ark. 1999).

Yüksek yağlı diyet ile birlikte glutenin metabolik etkileri şimdiye kadar dört hayvan çalışmasında ele alınmıştır. Bu raporlardan ikisinde, sekiz hafta boyunca gluten alımının obezite ve insülin direnci üzerindeki zararlı etkileri gösterilmiş (Soares FLP ve ark. 2013, Freire RH ve ark. 2015), diğer iki uzun vadeli çalışma ya bu parametreler üzerinde hiçbir etki göstermediği ya da glikoz toleransı üzerinde dalgalanan bir etki göstermediği bildirilmiştir (Rune I ve ark. 2016, Haupt-Jorgensen M ve ark. 2016). Tersine, son zamanlarda, gluten ve tip 2 diyabetin başlangıcı arasındaki bağ, yaklaşık 200.000 denek içeren üç prospektif kohort çalışması birleştirilerek analiz edilmiş, şaşırtıcı bir şekilde, en yüksek gluten alımının düşük diyabet riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır, glutensiz diyet tüketimi sonucunda düşük lif alımının bu sonuca neden olduğu düşünülmektedir (Zong G ve ark. 2018).

Farelere 23 hafta boyunca gliadin içeren yüksek yağlı diyetin verildiği bir çalışmada, gliadin içeren yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde kontrol grubuna göre, daha fazla hepatik lipit birikimi, daha yüksek HbA1c ve daha yüksek HOMA-IR ile belirlenen insülin direnci ve karaciğerde daha bol lipit damlacıkları sergilediği

saptanmıştır. Bu çalışmada, gliadinin, bağırsak ortamını bozduğu ve obez farelerde metabolik homeostazı etkilediği ve yüksek yağlı diyet tüketen glutene toleranslı kişilerde gluten alımının zararlı bir etkisi olduğu ortaya koyulmuştur (Zhang L ve ark. 2017).

Buğday gluteninin hamsterlarda bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisini değerlendirmek ve ayrıca mikrobiyotadaki değişikliklerin buğday gluteninin lipit düşürücü özelliklerine neden olup olamayacağını analiz etmeyi amaçlayan bir çalışmada, farelere hiperkolesterolemik diyet ile birlikte gluten verilmiş sonuçta buğday gluteninin, serum toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığı, ve ayrıca karaciğer toplam kolesterol, serbest kolesterol, trigliserit konsantrasyonlarını azalttığı saptanmıştır (Liang TT ve ark. 2019).

Buğdayda doğal olarak bulunan duyarlılık veya alerji semptomlarını tetikleyebilen küçük homolog proteinlerden oluşan bir aile olan amilaz-tripsin inhibitörlerinin (ATI) fraksiyonlarının, protein izolasyon işlemi sırasında gluteni kontamine edebildiği ve proenflamatuar hücre ve sitokin düzeylerini artırarak inflammatuar bağırsak yanıtının indüksiyonuna katkıda bulunabildiği düşünülmektedir. Gluten içeren diyetin, kolitli farelerde, kolit şiddetini yoğunlaştırdığı, bağırsak iltihaplanmasını şiddetlendirdiği ve bağırsak geçirgenliğini ve bakteriyel translokasyonu artırdığı saptanmıştır (Menta PLR, 2019).

4.3. Gluten ve Mikrobiyota

Düşük gluten diyetine bağlılık, genel popülasyonun bazı bölümlerinde giderek yaygınlaşmaktadır. Bununla birlikte, sağlıklı yetişkinlerde buğday, arpa ve çavdar tahılları da dahil olmak üzere gluten açısından zengin gıda maddelerinin azaltılmasının etkileri belirsizliğini korumaktadır (Hansen LBS ve ark. 2018).

Danimarka'da, düşük glutenli diyet (günde 2 g gluten) ile yüksek glutenli diyetin (günde 18 g gluten) etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, iki diyet arasında değişen 14 bakteri türünden, özellikle *Bifidobacterium* türlerinin nispi bolluğunun, düşük glutenli diyet rejimine bağlı kaldıktan sonra sürekli olarak azaldığı saptanmıştır.

Paralel olarak, yüksek gluten diyetine kıyasla düşük gluten diyetinden sonra bütirat üreten *E. hallii* ve *A. hadrus*'un yanı sıra hidrojen üreten *Dorea* ve hidrojen tüketen, asetat üreten *Blautia*'da bir azalma gözlemlenmiştir. Yüksek gluten içeren diyet ile *Bifidobacterium* türünde artış gözlemlenmiştir (Hansen LBS ve ark. 2018).

Yapılan başka bir çalışmada, buğday gluteninin dışkıdaki toplam kısa zincirli yağ asitlerinin konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırdığı gözlemlenmiştir. Buğday gluteni alımının *Firmicutes* ve *Erysipelotrichaceae*'nin nispi bolluklarını azalttığı, ancak *Bacteroidetes*, *Bacteroidales_S24-7_group* ve *Ruminococcaceae*'nin nispi bolluklarını arttırdığı saptanmıştır. (Liang TT ve ark. 2019).

Alternatif diyet proteini kaynaklarının Atlantik somonunun distal bağırsağındaki mikrobiyal toplulukları modüle edip etmediğine bakılan bir çalışmada, gluten içeren diyetin, yüksek nispi bol miktarda laktik asit bakterisine neden olduğu ve *Bacilli* sınıfı bakterilerin gluten ile beslenen grupta diğer diyetlerle beslenenlerden daha fazla olarak saptanmıştır (Gajardo K ve ark. 2017).

Başka bir çalışmada bir ay boyunca bir glutensiz diyeti takiben sağlıklı yetişkinlerin fekal mikrobiyotasında *Bifidobacterium*, *B. longum* ve *Lactobacillus* gibi sağlıklı bakterilerinin erozyona uğradığı ve sağlıklı bakterilerin arttığı (örn., *Enterobacteriaceae*, özellikle *E. coli*) gösterilmiştir (Sanz Y, 2010). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi sağlıklı bakterilerin azalması kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini azaltmasına ve bunların faydalı metabolik ve konakçı bağışıklık etkilerinin azalmasına yol açmaktadır (Garcia-Mazcorro JF ve ark. 2018).

Glutenin, gastrointestinal sistemdeki enzimler tarafından kısmen sindirildiği, gluteni oluşturan bir prolamın olan gliadinin, immünojenik peptitlerin oluşumuna yol açabileceği yönünde görüşler de mevcuttur. Gliadin, doğal mikrobiyotanın yerini alan patojenik bakterilerin çoğalmasını destekleyebilmektedir. Bu disbiyoz, potansiyel olarak enfeksiyon ve inflamasyonu kolaylaştıran bağırsak bariyeri fonksiyonunun azalması ile ilişkilidir (Menta PLR, 2019).

Önceki birkaç incelemede, bağırsak mikrobiyomunun bağırsak bütünlüğünü etkilediği gösterilmiştir (Sanz Y ve ark. 2015, Huang XZ ve ark. 2013). İleal mikrobiyotadaki gliadin kaynaklı değişiklikler, sıkı bağlantının (tight junction) azalması, müsin proteini kodlayan genlerin azalmasıyla, bağırsak bariyeri fonksiyonunda anormalliklere yol açmaktadır (Zhang L ve ark. 2017).

Yapılan bir çalışmada, farelere 23 hafta boyunca gliadin içeren yüksek yağlı diyet ya da gliadin içermeyen aynı kalorige yüksek yağlı diyet verilmiş, 9. haftada gliadin verilen farelerinin dışkı örneklerinde gliadin almayan gruba göre 10 kat daha az *Lactobacillus* saptanırken, *Coriobacteriaceae*, *Enterorhabdus*, *Clostridium XI*, *Dorea* gibi fırsatçı patojenlere ve *Akkermansia* bol miktarda saptanmıştır. Gliadin ile beslenen hayvanlarda azalmış bağırsak bariyeri fonksiyonu saptanmıştır. Toplam çekal kısa zincirli yağ asidi konsantrasyonları, gliadin verilen farelerinde gliadin verilmeyen farelerine göre daha yüksek miktarda saptanmıştır (Zhang L ve ark. 2017). Gluten içeren batı diyeti ile beslenen farelerde, *Clostridium XI* cinsinin nispi bolluğunu arttırdığı saptanmıştır (Olivares M ve ark. 2019) Farklı proteinlerin bağırsaklar üzerine etkisine bakılan bir çalışmada, *Bakteroidetler*'in, buğday gluteni ile beslenen grupta yüksek olduğu saptanmıştır (Kar SK ve ark. 2017).

Glutensiz diyetin sağlıklı kişilerde bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkilediği gösterilmiştir. Bir çalışmada glutensiz diyetin, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* gibi insan sağlığı için yararlı kabul edilen bakteri popülasyonlarında önemli ölçüde azalmaya ve *C. lituseburensense* ve *F. prausnitzii* oranlarında azalmaya, *Escherichia coli* ve toplam *Enterobacteriaceae* gibi fırsatçı patojenlerin sayısında önemli ölçüde artışa neden olduğu saptanmıştır (De Palma G ve ark. 2009).

Bu değişiklikler polisakkarit alımındaki azalmayla ilişkili olabilir, çünkü bu diyet bileşikleri genellikle kısmen sindirilmemiş kolonun distal kısmına ulaşır ve bağırsak mikrobiyotasının faydalı bileşenleri için ana enerji kaynaklarından birini oluşturur (De Graaf AA ve Venema K, 2008). Ayrıca, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* popülasyonlarında Gram-negatif bakterilere (*Bacteroides* ve *Escherichia coli*) göre azalmalar daha önce tedavi edilmemiş çölyak hastası çocuklarda ve tespit edilmiştir (Nadal I ve ark. 2007).

Bağırsak mikrobiyotasının, faydalı türlerde azalma ve potansiyel patojenlerde artış ile çölyak hastalığında bozulduğu bilinmektedir (Marasco G ve ark. 2016). Değiştirilmiş bağırsak mikrobiyotası, konakçı bağışıklığını ve fizyolojisini değiştirerek çölyak hastalarında, çölyak patogenezinin veya diğer hastalıkların şiddetlenmesinde ikincil bir rol oynayabilir (De Angelis M ve ark. 2016). Birkaç çalışmada glutensiz diyetin çölyak hastalarının bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Tablo 4.3.1.).

Glutensiz diyetin gluten ile ilgili bazı rahatsızlıklara fayda sağlayabileceği başka bir yolda, bağırsak mikroflorasının modülasyonudur. Glutensiz diyetin, çölyak hastası bireylerde bağırsak bakteri bileşimini ve işlevini yararlı bir şekilde değiştirdiği gösterilmiştir (Nistal E ve ark. 2012, Tjellström B ve ark. 2013). Glutensiz diyetin düşük polisakkarit içeriği, mikrobiyotada gözlenen bazı değişiklikleri açıklamaya yardımcı olabilir (De Palma G ve ark. 2009). Diyetle bağırsak iyileşmesi, farklı bakteri türlerinin büyümesini desteklemeye de yardımcı olabilir (Nistal E ve ark. 2012). Çocuk çölyak hastalarda, bağırsak mikroflorasının normal fonksiyonlarını düzeltmek için diyetle 1 yıldan fazla bir süreye ihtiyaç duyulduğu gözlemlenmiştir (Tjellström B ve ark. 2013).

Tablo 4.3. 1. Glutensiz diyetin çölyak hastalığında bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisine ilişkin temel bulgular

Denek Sayısı	Deneklerin Yaşı	Deneklerin Hastalığı	Uygulanma Süresi	Bulgular	Yazarlar
16 hasta ve 8 sağlıklı	Ortalama 5 yaş	Çölyak Hastalığı	2 yıl	↓ <i>E. coli</i> ve <i>Staphylococcus</i>	Collado MC ve ark. 2009
30 hasta ve 8 sağlıklı	Ortalama 4.9 yaş	Çölyak Hastalığı	1-2 yıl	↑ Total Toplam ve Gram-negatif bakterilerin aşırı büyümesi	Nadal I ve ark. 2007
19 hasta, 15 sağlıklı	6-12 yaş	Çölyak Hastalığı	2 yıl	↓ <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> ve <i>Bifidobakteri</i> ; ↑ <i>Bacteroides</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> ve <i>Klebsiella</i>	Di Cagno R ve ark. 2011
14 hasta, 42 sağlıklı	Yetişkinlerde	Çölyak Hastalığı	En az 2 yıl	↓ <i>Bifidobacterium</i>	Golfetto L ve ark. 2014

21 hasta	6-12 yaş	Çölyak Hastalığı	2 yıl	↑ <i>L. brevis</i> , <i>L. rossiae</i> ve <i>L. pentosus</i> ; ↑ <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. dentium</i> , <i>B. bifidum</i>	Di Cagno R ve ark. 2009
20 hasta, 10 sağlıklı	Ortalama 11.7 yaş	Çölyak Hastalığı	9 ay	↑ <i>B. vulgatus</i> ve <i>C. coccoides</i> grubu	Schippa S ve ark. 2010

Bakteriyel artış: ↑; bakteriyel azalma: ↓.

Ön çalışmalarda, çölyak hastalarında 2 yıllık glutensiz diyetten sonra, duodenum mukozal mikrobiyotasındaki dengesizliğin, bakteri zenginliğinin azalması nedeniyle tamamen restore edilemediği saptanmıştır (Collado MC ve ark. 2009, Nadal I ve ark. 2007). Aslında, diyetten sonra *Escherichia coli* ve *Staphylococcus* gibi potansiyel olarak patojenik bakterilerin göreceli bolluğu azalsada, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi yararlı türlerin seviyeleri düşük olarak saptanmıştır. Nistal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, (Nistal E ve ark. 2012) glutensiz diyeti takiben, çölyak hastalarında *Streptococcus* ve *Prevotella* düzeylerinde bir azalma olduğu saptanmıştır. Ancak *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacteria* gibi sağlıklı bakterilerin azalması ve *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Klebsiella* gibi zararlı türlerin artması Di Cagno ve ark., 2011 tarafından bildirilmiştir (Di Cagno R ve ark. 2011). Ayrıca son zamanlarda yapılan bir çalışmada, çölyak hastalarında en az 2 yıl süren bir glutensiz diyet sonrasında, düşük miktarda *Bifidobacterium* türü gözlemlenmiştir (Golfetto L ve ark. 2014). Glutensiz diyetin, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* dahil olmak üzere yararlı bakteri türlerinde azalmaya ve *Enterobacteriaceae*'nin artışına işaret ettiğini gösteren başka bir çalışma, Palma ve ark. tarafından yapılmıştır (De Palma G ve ark. 2014).

Başka bir çalışmada, kalıcı semptomatolojiye sahip çölyak hastaları ile kalıcı semptomları olmayan bir grup hasta ile karşılaştırılmış, her ikisi de 3 yıl glutensiz diyet ile tedavi edilmiştir. Sonuçlar, hastalarda daha önceki bir disbiyozun, glutensiz diyete sıkı bir şekilde bağlı kalırken bile semptomların kalıcılığını göstermiş, özellikle kalıcı semptomları olan hastaların bağırsak mikrobiyotaları, bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinde azalma, daha yüksek *Proteobacteria* seviyeleri ve daha düşük *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* seviyeleri ile karakterize edilmiştir (Wacklin P ve ark. 2014).

4.4. Bağırsak Mikrobiyotası ve Obezite

Mikrobiyotanın bileşimi ve işlevi sağlıklı ve obez denekler arasında farklılık göstermekte, obezite ve metabolik hastalık yükünün daha büyük olduğu popülasyonlarda, daha düşük bir mikrobiyal çeşitlilik gözlemlenmektedir (Dao MC ve Klement C, 2018).

Mikrobiyotanın, enerji metabolizması ve obezite gelişiminde önemli bir rol oynadığı, diyet müdahalesinin, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve bunun konakçı metabolizması üzerindeki potansiyel etkilerini değiştirebileceği belirtilmiştir (Turnbaugh PJ ve ark. 2009).

Bağırsak mikrobiyotası, insanlar için başka türlü erişilemeyen karmaşık bitki polisakkaritlerini, monosakkaritlere ve kısa zincirli yağ asitlerine, esas olarak asetat, propionat ve bütirata işleyebilir. Bu yağ asitleri, omnivorlarda günlük enerji arzının yaklaşık %10'unu ve otoburlarda %70'e varan oranlarda sağlayabildikleri için vücudumuz için önemli bir enerji kaynağıdır (Flint HJ ve ark. 2008). Geleneksel mikrobiyotaya sahip farelerin, germ-free farelerine göre (germ-free farelerinin daha fazla yem tüketmesine rağmen) %42 daha fazla vücut yağına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Daha sonra germ-free farelere fekal transplantasyon yapıldığında, 2 hafta içinde vücut yağ kütlelerinde %60 artış gözlemlenmiştir (Backhed F ve ark. 2004). Geleneksel ve GF fareleri arasındaki vücut yağındaki farklılıkları açıklayabilen önemli bir mekanizma, bağırsak mikrobiyotasının fermantasyonu nedeniyle gıdalardan elde edilen enerji hasatındaki artıştır (Flint HJ ve ark. 2008).

Butirat, kolonik epitel hücreleri için tercih edilen enerji kaynağıdır ve ince bağırsak villus epitelyumunun altında yatan kılcal damarların yoğunluğunu arttırmaktadır (Flint HJ ve ark. 2008). Emilen propionat ve asetat, sırasıyla glukoneogenez ve lipogenez için kullanılacakları hepatositlere verilmektedir (Stappenbeck TS ve ark. 2002). Bununla birlikte, KZYA'leri sadece konakçı için enerji substratları olarak değil, aynı zamanda sinyal alım molekülleri olarak da hareket ederler, bu da enerji alımını ve metabolizmasını etkiler (Conterno L ve ark. 2011).

Bir enerji kaynağı olmasının yanı sıra, KZYA'leri aynı zamanda G- protein

bağlı reseptörlere (GPR43 ve GPR41) bağlanan sinyal molekülleri olarak da işlev görebilirler. Sinyal molekülü GPR43, esas olarak bağışıklık hücrelerinde ve adipositlerde eksprese edilir ve enerji homeostazında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Yağ dokusunda SCR-aracılı GPR43 aktivasyonu, insülin sinyalini baskılar ve adipositlerde lipit depolamasını azaltır, aynı zamanda diğer dokulardaki lipitlerin oksidasyonunu artırır, bu da enerji tüketiminin artmasına neden olmaktadır örneğin; GPR43 eksikliği olan farelerin beslendiğinde obezite oranı yüksekken, özellikle yağ dokusunda GPR43'ü aşırı eksprese eden farelerin, yüksek yağlı diyet ile beslendiğinde bile diyetin obez yapma etkisine karşı direnç gösterdiği saptanmıştır. Diğer sinyal molekülü GPR41'in yağ dokusunda KZYA'leri tarafından aktive edilmesinin, in vitro leptin ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir (Brown AJ ve ark. 2003, Kimura I ve ark. 2013).

Yüksek yağ ve enerji içeriğiyle Batı diyeti, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği, bozulan kompozisyonu, disbiyozu ve bağırsak mikrobiyotasının taksonomik kompozisyonundaki bir dengesizlik ile ilişkilendirilmektedir. Deneysel çalışmalarda, spesifik bağırsak mikrobiyota profillerinin, diyetten kalori alınmasını ve konakçı yağ dokusunda depolanmasını kolaylaştırdığına dair kanıtlar gösterilmiştir. Disbiyoz durumunda, sindirilmemiş gıdaların fermantasyonu yoluyla enerji verimliliğinin ve bağırsak geçirgenliğinin arttığı, böylece konakçıya daha fazla enerji sağlandığı; kısa zincirli yağ asidi üretimini arttırarak, bağırsak monosakkarit emilimi ve enerji ekstraksiyonu, daha sonra karaciğerde trigliseritlerin novo sentezinin uyarılması ile birlikte kilo alımını arttırdığı gözlemlenmiştir (Bäckhed F ve ark. 2004). Ayrıca, disbiyozun bağırsakta açlık kaynaklı yağ faktörünü baskılayarak adipositlerde yağ asidi depolamasını artırabildiği, bunun da adipositlerde enzim lipoprotein lipaz aktivitesini ve yağ depolamasını arttırdığı saptanmıştır (Bäckhed F ve ark. 2004). Dengeli bir bağırsak mikrobiyota bileşiminin, yine hücrel enerjiye bağımlı protein kinaz aktivasyonunu inhibe ederek diyet kaynaklı obeziteye karşı koruyucu olduğu saptanmıştır (Bäckhed F ve ark. 2007).

Diyet ve bağırsak mikrobiyal kompozisyonu ile obezite arasında önemli bir bağ olduğu öne sürülmüş ve obezite için uyuşmayan dişi ikiz çiftlerinin her birinden

farelere bağırsak mikrobiyota nakli yapılarak "obez mikrobiyot" ile transplante edilen farelerde "zayıf mikrobiyot" ile transplante edilen farelere göre toplam vücut ve yağ kütlesinde artış olduğu saptanmıştır (Ridaura VK ve ark. 2013). Ayrıca, bağırsak mikrobiyal kompozisyonu 169 obez ve 123 obez olmayan Danimarkalı bireyde değerlendirilmiş ve bu çalışma sonucunda, bakteri zenginlikleri düşük bireylerin, bakteri zenginlikleri yüksek olan bireylere kıyasla, daha belirgin yağlanma, insülin direnci, sistemik inflamasyon ve dislipidemi gibi metabolik durumlar sergilediği gösterilmiştir (Le Chatelier E ve ark. 2013).

Obez deneklerin mikrobiyotasında, gıdalardan daha yüksek enerji emilimi ve düşük dereceli iltihaplanmada artış ile ilişkili *Firmicutes* filum bakterilerinde bir artış gözlemlenmektedir. *Firmicutes* / *Bacteroidetes* oranında bir artış, obezite ve insülin direncinin gelişimi ile pozitif korelasyon göstermektedir (Correa TAF ve ark. 2019). *Firmicutes* filumunda birçok bütirat üreten tür bulunur ve bütirat ve asetat sentezindeki bir artış obez insanlarda enerji hasatında bir artışa katkıda bulunabilir. Ayrıca asetat emilebilir ve karaciğerde lipogenez ve glukoneogenez için bir substrat olarak kullanılabilir (Gomes AC ve ark. 2018). *Firmicutes* türlerinde yaklaşık %20'lik bir artışın ve *Bacteroidetes* türlerinde (kilo alımı sırasında meydana gelecek olan) buna karşılık gelen bir azalmanın, günlük enerji hasatında 150 kcal/gün (alınan kalorinin yaklaşık %5'i) artışla ilişkilendirilmektedir (Jumpertz R ve ark. 2011).

Zayıf ve obez olan çocukların mikrobiyotalarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, obez / aşırı kilolu çocukların mikrobiyotasının, normal/zayıf kilolu çocuklardan önemli ölçüde daha fazla *Firmicutes* ve önemli ölçüde daha az *Bifidobacterium* içerdiği saptanmıştır (De Silva CC ve ark. 2020). Ergenler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, bel ve boyun çevresi ortalamadan yüksek olan ergenlerde, ortalama *Firmicutes* filum miktarı, bel ve boyun çevresi normal sınırlarda olan ergenlere göre daha yüksek miktarda gözlemlenmiştir (Miranda VPN ve ark. 2019).

Obez bireylerin bağırsak bakterilerinde görülen değişim Tablo 4.4.1.'de gösterilmiştir (Walters WA ve ark. 2014). Ley ve ark. yapıları çalışmada, obez hayvanların *Bacteroidetes* bolluğunda %50 azalma ve *Firmicutes*'de oransal bir artış

olduğu saptanmıştır (Ley RE ve ark. 2005).

Bariatrik cerrahi ile ilgili çalışmalarda, roux-en-Y gastrik bypass (RYGB) ve laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG) sonrasında *Firmicutes*'de bir azalma saptanmış, bu hasta grubunda özellikle diyet tedavisinden sonra *Firmicutes-Bacteroidetes* oranında da bir azalma ve *Bacteroidetes* oranı ile vücut yağ kaybı yüzdesi arasında pozitif korelasyon gözlemlenmiştir (Zhang H ve ark. 2009, Kong L ve ark. 2013, Damms-Machado A ve ark. 2015).

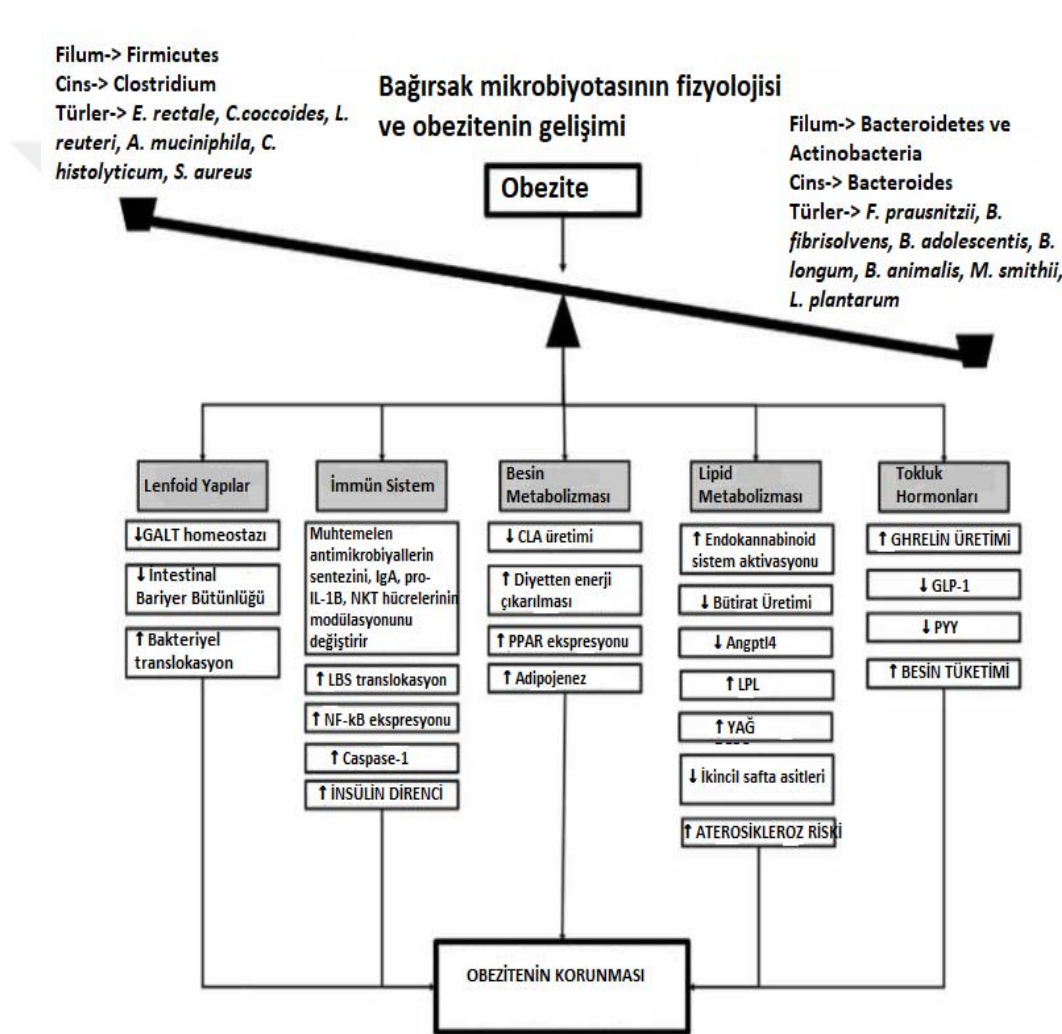
Tablo 4.4. 1. Obez bireylerin bağırsak bakterilerinde artış/azalış

Takson	Artar	Azalı
<i>Actinobacteria</i>		
<i>Bifidobacterium (genus)</i>		+
<i>Bifidobacterium animalis</i>		+
<i>Euryarchaeota</i>		
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	+	+
<i>Firmicutes</i>		
<i>Oscillospira [sp]</i>		+
<i>Clostridium cluster XIVa</i>	+	
<i>Roseburia intestinalis</i>	+	
<i>Eubacterium rectale</i>	+	
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>		+
<i>Lactobacillus (genus)</i>	+	
<i>Lactobacillus casei/paracasei</i>		+
<i>Lactobacillus reuteri</i>	+	
<i>Bacteroidetes</i>		
<i>Bacteroides (genus)</i>	+	
<i>Bacteroides vulgates</i>		+
<i>Bacteroides uniformis</i>		+
<i>Alistipes (genus)</i>		+

Mevcut verilerde büyük miktarda heterojenite olmasına rağmen, literatürden obezite ve mikrobiyota ile ilgili şu sonuçlar çıkarılabilir (Şekil 4.4.1.);

Obez ve obez olmayan bireyler arasında mevcut olan farklı mikrobiyom profili ile işaretlenen bağırsak disbiyozunun varlığı ile karakterize edilmektedir; ortaya çıkan disbiyoz, bağırsak bariyerinin ve galaktoz-1-fosfat üridil transferazın (GALT)

çalışmasını değiştirerek liposakkarit gibi bakterilerin yapısal bileşenlerinin geçişine izin verebilir ve insülin reseptörünün varlığıyla değiştirilmesiyle insülin direncinin gelişmesine katkıda bulunabilecek enflamatuar yolları aktive edebilir. Bağırsak disbiyozu, tokluk ile ilişkili gastrointestinal peptitlerin üretimini değiştirebilir, bu da gıda alımının artmasına neden olabilir; ve lipit metabolizması bağırsak mikrobiyomunda gözlenen değişikliklerle etkilenebilir, bu da vücut yağlanmasının artmasına sebep olan bir uyararla sonuçlanmaktadır (Gomes AC ve ark. 2018).



Şekil 4.4. 1. Bağırsak mikrobiyotasının fizyolojisi ve obezitenin gelişimi

*Obezite ve bağırsak disbiyozunu obezitenin korunmasına katkıda bulunan fizyolojik değişikliklerle ilişkilendiren olası mekanizmalar. GALT: bağırsakla ilişkili lenfoid doku; IgA: immüoglobulin A; LPS: lipopolisakkarit; NF-:B: nükleer faktör kappa B; CLA: konjuge linoleik asitler; PPAR: peroksizom proliferatörle aktive edilmiş reseptör; LPL: lipoprotein lipaz; Angptl4: anjiyopietin benzeri protein 4; GLP-1: glukagon benzeri peptit 1; PYY: peptit YY

5. MATERYAL VE METOT

5.1 Araştırma Yeri ve Örneklem Seçimi

Bu çalışma, İstanbul Medipol Üniversitesi Tıbbi Araştırma Merkezi (MEDİTAM) ve İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Bölümünde, Kasım 2019-Ekim 2020 tarihleri arasında yürütülmüştür. Bu çalışmada, deney gruplarının oluşturulması amacıyla, ağırlıkları 20-30 g arasında değişen, dört haftalık erkek cinsiyette homojen grup dağılımı olacak şekilde 25 adet BALB/c fareleri MEDİTAM'dan temin edilmiştir.

Çalışma için İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 30/09/2019 tarihli ve 62 karar no'lu "Etik Kurul Onayı" alınmıştır.

5.2 Çalışmanın Genel Planı

Denekler bir haftalık aklimatizasyondan sonra 4 gruba ayrılmış (n=6) ve bu süreçte 21 ± 2 °C sabit oda ısısında, doğal gece-gündüz siklusları korunup, ad libitum olarak taze içme suyu ve standart laboratuvar yemi verilerek beslenmiştir (Atılgan S. 2018).

Gluten ve yüksek yağlı diyet başlanmadan önce fareler tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Steril gluten 5 mg/gün olacak şekilde asetik asit içinde çözündürülerek haftada 3 kez oral gavaj ile verilmiş, gavaj verilmeden 1 saat önce yeme erişim engellenmiştir (Galipeau HJ ve ark. 2015). Gluten almayan grupta aynı stres koşullarını oluşturmak için diğer gruplara, haftada 3 kez asetik asit gavaj verilmiştir. Deney hayvanlarının günlük yem ve su ihtiyaçları ad libitum karşılanmıştır. 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık koşullarda deneklerin gelişimi izlenmiştir (Swiątecka D ve ark. 2017). Her bir deneğin canlı ağırlığı haftalık periotlarda ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Her bir kafes gecedan değiştirilerek haftada bir kez kafeslerden dışkı toplanmıştır.

5.3. Antropometrik Ölçümler

Bu çalışmada farelerin vücut ağırlığı (g) hesaplanmıştır. Her bir fare, vücut ağırlığı saptanması için küpe ile numaralandırılmıştır. Vücut ağırlıkları Weightlab WH-2002 cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

5.4. Uygulanan Diyet Müdahalesi

Aklimatizasyondan sonra farelere farklı diyetler uygulanmıştır. Standart diyet için Altromin 1324 (Altromin GmbH, Lage, Almanya) fare yemi kullanılmıştır. Standart diyetin içeriği, Tablo 5.4.1 ve Tablo 5.4.2’de verilmiştir.

Tablo 5.4. 1. Uygulanan standart yemdeki makrobesinler

İçerik		Değer	Birim
Karbonhidrat	2091	%65	kkal/kg
Protein	768	%24	kkal/kg
Yağ	367	%11	kkal/kg
Total Kalori	3226	%100	kkal/kg

*Diyetlerin enerji ve makro besin ögesi içerikleri üreticilerden ve paketlerin üzerindeki besin etiketlerinden sağlanmıştır. Diyet ad libitum olarak uygulanmıştır. g=gram, kkal=kilokalori

Tablo 5.4. 2. Uygulanan standart yemdeki ham besinler ve nem

İçerik		Değer	Birim
Nem	113,426	%11.3	mg/kg
Ham Kül	58,553	%5.9	mg/kg
Ham Lif	60,744	%6.1	mg/kg
Doymuş Yağ	40,791	%4.1	mg/kg
Ham Protein	192,111	%19.2	mg/kg

*Diyetlerin enerji ve makro besin ögesi içerikleri üreticilerden ve paketlerin üzerindeki besin etiketlerinden sağlanmıştır. Diyet ad libitum olarak uygulanmıştır. g=gram, kkal=kilokalori

Yüksek yağlı diyet; 100 gram standart laboratuvar yemine 19,5 gram tereyağı oranından yola çıkılarak hazırlanmış, tereyağı eritilerek eşit yayılacak şekilde yemin emmesi sağlanmış ardından kavrulmuştur. Yüksek yağlı diyetin kaloriye göre makrobesin yüzdeleri sırasıyla, %65 yağ, %24 protein ve %11 karbonhidrattır (Arı Z ve ark. 2008, Swiątecka D ve ark. 2017).

Denek gruplarına dört hafta boyunca farklı diyet uygulanmıştır. Steril gluten 5

mg/gün olacak şekilde asetik asit içinde çözdürülerek haftada 3 kez oral gavaj ile verilmiştir. Gruplara uygulanan diyet müdahalesi şu şekilde belirlenmiştir (Tablo 5.4.3) (Ijaz MU ve ark. 2018, Hansen LBS ve ark. 2018, Swiątecka D ve ark. 2017, Galipeau HJ ve ark. 2015, Troncone R ve ark. 1994):

Tablo 5.4. 3. Deney gruplarına uygulanan diyet müdahalesi

GRUP 1 (kontrol grubu)	Standart diyet ve asetik asit gavaj (SD)
GRUP 2 (deney grubu)	Standart diyete ek asetik asit içinde çözülmüş 5 mg/gün gluten gavaj (SD+G)
GRUP 3 (deney grubu)	Yüksek yağ oranı içeren diyet ve asetik asit gavaj (YYD)
GRUP 4 (deney grubu)	Yüksek yağ oranı içeren diyete ek asetik asit içinde çözülmüş 5 mg/gün gluten gavaj (YYD+G)

Buğday gluteninin içeriği Tablo 5.4.4' te verilmiştir (USDA, 2019).

Tablo 5.4. 4. Buğday gluteninin içeriği (100 gram)

İçerik	Miktar
Su	8.2 g
Enerji	370 kkal
Karbonhidrat	13.79 g
Protein	75.16 g
Total yağ	1.85 g
Kül	1 g
Şeker	0
Lif	0.6 g

Buğday gluteninin aminoasit bileşimi Tablo 5.4.5' te verilmiştir (Liang T ve ark. 2019).

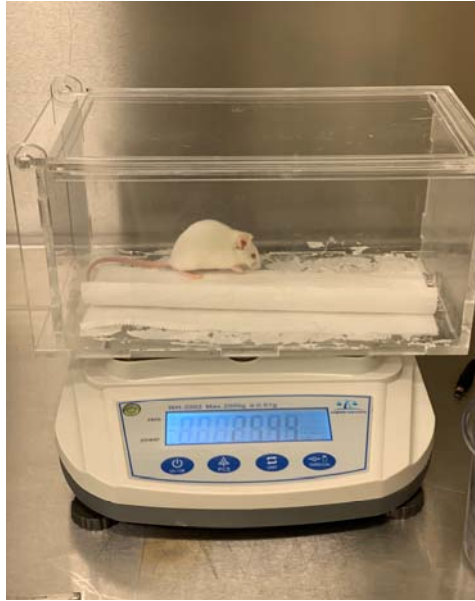
Tablo 5.4. 5. Buğday gluteninin aminoasit bileşimi (mg/g)

Amino Asit	Buğday Gluteni
Asparajin	41.00
Treonin	17.56
Serin	22.63
Glutamin	138.48
Glisin	22.16
Alanin	23.77
Sistin	7.95
Valin	28.89
Metiyonin	9.29

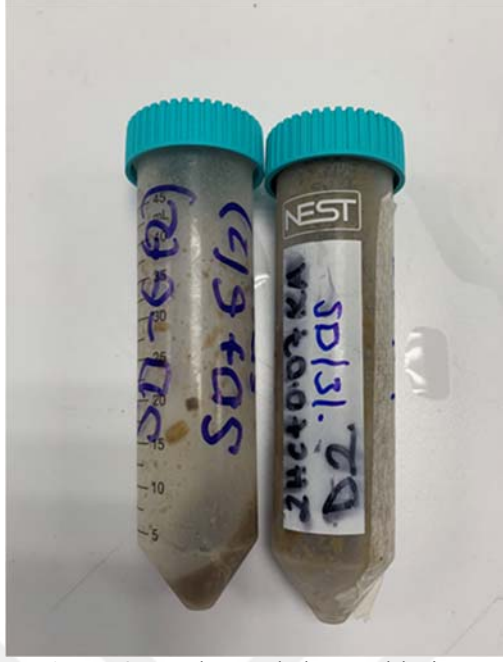
İzolösün	22.46
Lösün	44.00
Tirozin	21.17
Fenilalanin	32.46
Lizin	20.22
Histidin	13.69
Arjinin	39.96



Resim 5. 1. Glutenin asetik asit içinde çözünmüş hali



Resim 5. 2. Farelerin ağırlığının ölçülmesi



Resim 5. 3. Toplanan dışkı örnekleri

5.5. Etken İzolasyon ve İdentifikasyon Prosedürü

5.5.1. *Lactobacillus spp*:

İzolasyona hazırlanmış uygun dilüsyonlardan, laktobasiller için Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agara (Merck, Almanya) ve enterokoklar için Nutrient agar (Merck, Almanya) (NA) agar besiyerlerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. MRS agar (pH 5.7 ± 0.2) $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de, NA (pH 7.0 ± 0.2) $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 48 saatlik inkübasyon sonucunda farklı morfolojik özelliklere sahip koloniler seçilmiştir. Enterokokların petri kutularından seçiminde küçük, beyaz ya da soluk renkli ve düzgün kenarlı tipik kolonilere, laktobasillerin seçiminde krem renkli, mat düzgün kenarlı kolonilere öncelik verilmiştir. Saflık kontrolleri yapılacak izolatların mikroskopik görünümü, Gram reaksiyonu ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir. Çeşitli boyutlarda kok şekilli, Gram pozitif görünümlü ve katalaz negatif izolatlar enterokoklara; çubuk şekilli, Gram pozitif görünümlü ve katalaz negatif izolatlar laktobasilere özgü tanı testleri yapılmak üzere ayrılmıştır (Halkman AK. 2005).

Sherman sınıflamasına ve diğer bazı fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre identifikasyon prosedürü uygulanmıştır. Laktobasilleri tanımlamada; glikozdan gaz

oluşturma, arjininden amonyak oluşturma, 45 °C ve 15 °C’de gelişme testleri, litmus milk (Fluka) besiyerinde pıhtılaştırma testi, enterekokları tanımlamada 10 °C’ de ve 45 °C’ de, pH 9.6, % 6.5 NaCl ve % 0.3 metilen mavisi içeren besiyerini redükte etme durumları ile %0.04 telluriti indirgeme durumları incelenmiştir (Tunail N ve ark. 2001). Ayrıca gerektiği takdirde BBL™ CRYSTAL™ Gram pozitif identifikasyon (ID) test kitlerinin kullanılması ve bu test kitinde kromojenik ve florojenik renk değişimine göre suş ayırmalarının yapılması planlanmıştır.

5.5.2. Toplam Koliform Grubu Bakteri

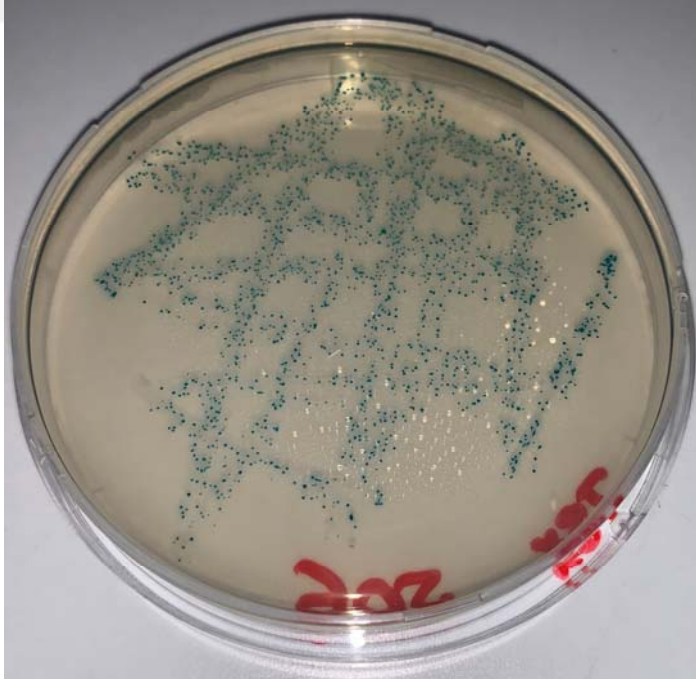
Asepsi şartlarına uyularak ve steril kaplar kullanılarak toplanılan ve laboratuvara ulaştırılan örneklere, öncelikle dilüsyon ve homojenizasyon prosedürleri uygulanmış, sonrasında ise, daha önceden hazırlanarak petri kutularına dökülmüş VRB (Violet Red Bile Agar) agar (Merck, Almanya) besi yerine standart yayma yöntemi ile geçiş yapılmıştır. Ekimden sonra, petrilere 2. kat VRB agar ilave edilmiş, petri kutuları 37°C’de 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuş ve inkübasyon sresinin bitiminde oluşan tipik kolonilerin sayımı yapılmıştır (Hitchins AD ve ark. 2000).

5.5.3. *Escherichia coli*:

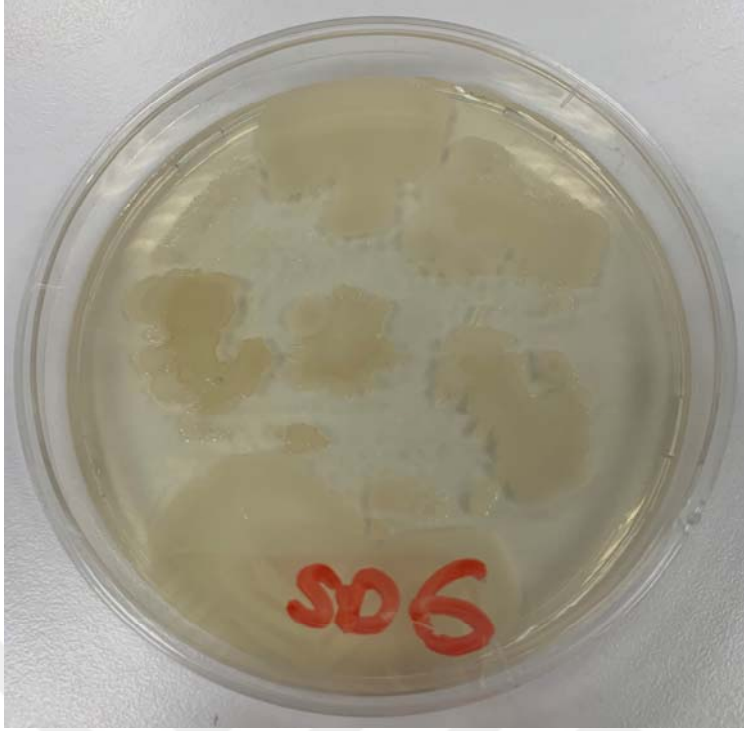
Asepsi şartlarına uyularak ve steril kaplar kullanılarak toplanılan ve laboratuvara ulaştırılan örneklere öncelikle dilüsyon ve homojenizasyon prosedürleri uygulanmış, sonrasında ise, daha önceden hazırlanarak petri kutularına dökülmüş TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) agar besi yerine standart yayma yöntemi ile geçiş yapılmıştır. Petri kutuları 44°C’de 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuş ve inkübasyon sresinin bitiminde oluşan tipik kolonilerin sayımı yapılmıştır. *E. coli* serotiplerinin yaklaşık %98’i β – D glucuronidase enzimi içermektedir. Diğer bakterilerde çok ender görülen bu enzim, 4 – Methylumbilliferyl- β -D glucuronid (MUG) substratını parçalamakta ve parçalanma rnleri U.V. işık altında floresan işıma vermektedir. Bu nedenle etkenin ekiminde TBX agarın yanı sıra MUG içeren kromojenik bir besi yerinin de kullanılması planlanmıştır (FDA. 2001).



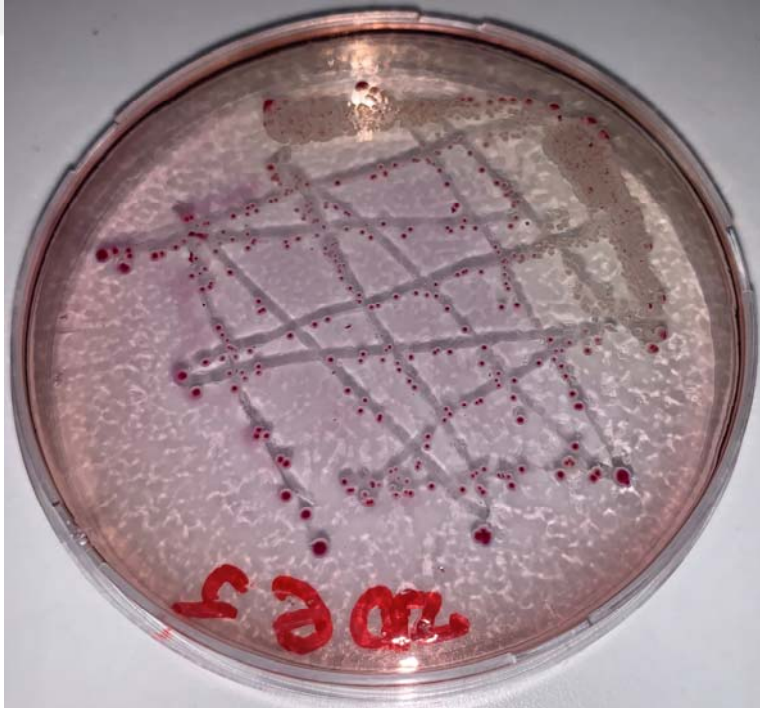
Resim 5. 4. MRS agarda üreyen *lactobasiller*



Resim 5. 5. TBX agarda üreyen *E. Coli*



Resim 5. 6. Nutrient agarda üreyen enterokoklar



Resim 5. 7. VRB agarda üreyen koliform grubu bakteriler

5.6. DNA Ekstraksiyonu

Tüm izolatların DNA'ları ticari DNA ekstraksiyon kiti ile kit protokolüne uygun olarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar PCR işlemlerinde hedef DNA olarak kullanılmak üzere –20° C de saklanmıştır (Atılğan S. 2018).

5.7. PCR

PCR prosedürlerinde kullanılmak üzere çalışmada analiz edilecek mikrobiyolojik parametrelere spesifik olarak dizayn ettirilecek primerler Tablo 5.7.1.'de gösterilmiştir (Atılğan S. 2018).

Lactobacillus spp. parametresi açısından çalışmamızda obezite üzerine en etkili olacağı düşünülen *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* ve *Lactobacillus brevis* türleri PCR prosedürüne dahil edilmiştir.

Tablo 5.7. 1. Çalışmamızda kullanılması planlanan primer setleri ve özellikleri

Primer No	Sekans (5' – 3')	Hedef Gen / Amp (bp)	Hedef Mikroorganizma
1	AAGAACTTTGT TTAGTTTTGAGG TA	16s rRNA	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
2	CAATTTTCGTGT CCCCTTCG GTTAATGATAGT GTGTCGAAAC	23S / 450	<i>Escherichia coli</i>
3	AAGAACTTTGTT CAGTTTTGAGAG TA	16s rRNA	<i>Lactobacillus delbrueckii subs bulgaricus</i>
4	TTGAAACAATGT TCAGTTTTGAGG GGC	16s rRNA	<i>Lactobacillus brevis</i>

PCR karışımının şu şekilde olması belirlenmiştir: 2 ml DNA örneği, 2.5 mM MgCl₂, 10 mM Tris–HCl pH 8.0, 5 mM KCl (her bir nükleotidden 0.2 mM olacak şekilde), her bir primer 0.8 nmol/ml, 1 U of Taq DNA polymerase (final 25 µl.). Amplifikasyon işlemleri Doral ve ark.'nın belirttiği protokole göre uygulanmıştır. Başlangıç denatürasyon ısısı 5 dakika 94 °C olarak belirlenmiştir. Daha sonra

denatürasyon için 94 °C'de 1 saniye ve takiben primerlerin bağlanması için 55 °C'de 1 saniye ve uzama için 72 °C'de 21 saniye ısı işlem uygulanmıştır. Bu şekilde toplam 35 siklus uygulandıktan sonra 72 °C'de 7 dakika son uzama işlemi ile PCR protokolünün tamamlanması planlanmıştır (Atılğan S. 2018).

5.8. Elektroforez

PCR ürünleri %2'lik (wt/vol) ethidium bromide içeren agarozda elektroforeze tabi tutulmuş ve U.V. transilüminatör yardımı ile spesifik bantların varlığı aranmıştır (Atılğan S. 2018).

5.9. İstatistik Analizler

Çok değişkenli anova (multivariate anova) ya da kısaca MANOVA, bir ya da daha çok faktöre göre oluşan grupların birden fazla bağımlı değişken bakımından anlamlı farklılık gösterip göstermediğini test etmek amacıyla çalışmamızda kullanılmıştır. Çalışmamızda t testi ikili değişken ilişkilerini belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Verilerin normal dağılımlı olmadığı durumlarda grup farklılıklarının sınanmasında Friedman ve Mann-Whitney-U testleri uygulanmıştır. Friedman testi, parametrik testlerin kullanımına ilişkin şartların sağlanmaması durumunda ilişkili veya tekrarlı ölçümler için tek-faktörlü varyans analizinin alternatifini olarak çalışmamızda kullanılmıştır. Çalışmamızda rastgele örnekleme ve t testi için koşullar uygun olmadığı durumlarda Mann – Whitney U testi kullanılmıştır. Grup farklılıklarının sınanmasının ardından ikinci aşamada ilişki analizleri ele alınmıştır. Ele alınan patojen parametrelerin gruplar bazında birbiriyle olan ilişkileri personel yüzey ve ekipman arasındaki kirlilik yol haritası bu ilişki analizleri sayesinde ortaya konulmuştur. Normal dağılımın sağlandığı durumda Pearson korelasyon analiz uygulanmıştır. Normal dağılımın sağlanmadığı durumlarda ise, Kendall's Tau ilişki analizi uygulanmıştır. Çalışmada kategorik veriler de olduğundan serilerin ilişkilerinin belirlenmesinde ki-kare ilişki analizi kullanılmıştır. Bu yöntem çalışmamızda, sadece ilişkilerin saptanmasında değil, aynı zamanda değişkenler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde de kullanılmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasında lojistik regresyon modeli ile risk haritası belirlenmiştir. Mikrobiyolojik kirliliğin risk faktörleri

belirlenerek ilişkiler ortaya konmuştur. İstatistiksel anlamlılık için 0,05 anlamlılık düzeyi kullanılmıştır.

5.10. Çalışmada Karşılaşılan Güçlükler ve Sınırlılıklar

Farelere verilecek glutenin çözünmesi ve deneklere gavaj uygulaması sırasında deneklerin hareketliliği nedeniyle maddenin tam olarak mideye ulaşması karşılaşılan en büyük zorluklardan olmuştur.



6. BULGULAR

6.1. Vücut Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Deneklerin gruplara göre vücut ağırlığı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 6.1.'de verilmiştir.

Tablo 6. 1. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Deneklerin canlı ağırlık parametresi açısından grupların ikili ilişkileri

Deneklerin Ağırlıkları	Kontrol	Yüksek Yağ	Yüksek Yağ + Gluten	Normal Diyet + Gluten
Kontrol000	.000	.002
p, r, N	1.000 1600	.109 1600	.286 1600	.892 1600
Yüksek Yağ	.000003	.001
p, r, N	.109 1600	1.000 1600	.500 1600	.303 1600
Yüksek Yağ + Gluten	.000	.003002
p, r, N	.286 1600	.500 1600	1.000 1600	.404 1600
Normal Diyet + Gluten	.002	.001	.002
p, r, N	.892 1600	.303 1600	.404 1600	1.000 1600

Elde edilen sonuçlara göre gluten ve yüksek yağlı diyet uygulamaları kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı derecede kilo kazanımına neden olmuştur ($p < 0.05$). Yüksek yağ ve gluten bireylerde kilo kazanımını indüklemektedir (Tablo 6.1.).

6.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı Değerlendirilmesi

Deneklerin gruplara göre dışkılarında bulunan toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 6.2.'de verilmiştir.

Tablo 6. 2. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı parametresi açısından grupların ikili ilişkileri

Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı	Kontrol	Yüksek Yağ	Yüksek Yağ + Gluten	Normal Diyet + Gluten
Kontrol582	.704	.286
p, r, N	1.000 1600	.616 1600	.761 1600	.433 1600
Yüksek Yağ	.582302	.123
p, r, N	.616 1600	1.000 1600	.707 1600	.303 1600
Yüksek Yağ + Gluten	.704	.302193
p, r, N	.761 1600	.707 1600	1.000 1600	.505 1600
Normal Diyet + Gluten	.193	.123	.193
p, r, N	.505 1600	.303 1600	.505 1600	1.000 1600

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı parametresi açısından gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>005$). Uygulanan farklı diyet protokollerinin söz konusu mikrobiyolojik parametre üzerine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (Tablo 6.2.).

6.3. *Lactobacillus spp.* Parametresi

Deneklerin gruplara göre dışkılarında bulunan toplam *Lactobacillus spp.* bakteri sayısı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 6.3.'te verilmiştir.

Lactobacillus bulgaricus parametresi için diyetlere gluten eklenmesi söz konusu mikrobiyolojik parametre ile pozitif yönde (glutenin etkenin üremesini stimüle etmesi yönünde) istatistik açıdan anlamlı olacak şekilde etkilidir ($p<005$). Diyetlere gluten eklenmesi normal şartlar altında bağırsak florasında bulunan *Lactobacillus* türlerinin üremesini indüklemektedir (Tablo 6.3.).

Tablo 6. 3. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): *Lactobacillus spp.* parametresi açısından grupların ikili ilişkileri

<i>Lactobacillus spp.</i>	Kontrol	Yüksek Yağ	Yüksek Yağ + Gluten	Normal Diyet + Gluten
Kontrol003	.004	.000
p, r, N	1.000 1600	.044 1600	.021 1600	.039 1600
Yüksek Yağ	.003099	.000
p, r, N	.044 1600	1.000 1600	.055 1600	.066 1600
Yüksek Yağ + Gluten	.004	.099001
p, r, N	.021 1600	.055 1600	1.000 1600	.089 1600
Normal Diyet + Gluten	.000	.000	.001
p, r, N	.039 1600	.303 1600	.089 1600	1.000 1600

6.4. Toplam Koliform Grubu Bakteri Sayısı Değerlendirilmesi

Deneklerin gruplara göre dışkılarında bulunan toplam koliform grubu bakteri sayısı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 6.4.'te verilmiştir.

Yüksek yağ ile diyet uygulaması bağırsakta bulunan toplam koliform grubu bakterilerinin üremesinin engelleyici özellikte istatistiki açıdan anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<005$). Gluten içeren diyet uygulamaları da aynı şekilde bağırsaktaki toplam koliform grubu bakteri üremesi üzerine negatif anlamda etkilidir ($p<005$). Her ne kadar yüksek yağ ve yüksek yağ + gulten grupları arasında toplam koliform grubu bakteri sayısı parametresinin üremesi üzerine anlamlı bir farklılık tespit edilmese de hem yüksek yağın hem de gluten uygulamasının tek başına diğer gruplar için istatistik açıdan anlamlı farklar saptanmıştır ($P<005$) (Tablo 6.4.).

Tablo 6. 4. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): Toplam koliform grubu bakteri sayısı parametresi açısından grupların ikili ilişkileri

Toplam Koliform Grubu Bakteri	Kontrol	Yüksek Yağ	Yüksek Yağ + Gluten	Normal Diyet + Gluten
Kontrol001	.000	.051
p, r, N	1.000 1600	.044 1600	.505 1600	.299 1600
Yüksek Yağ	.001116	.004
p, r, N	.044 1600	1.000 1600	.202 1600	.867 1600
Yüksek Yağ + Gluten	.000	.116002
p, r, N	.505 1600	.202 1600	1.000 1600	.602 1600
Normal Diyet + Gluten	.051	.004	.002
p, r, N	.299 1600	.867 1600	.602 1600	1.000 1600

6.5. *Esherichia coli* Parametresi Değerlendirilmesi

Deneklerin gruplara göre dışkılarında bulunan toplam *Esherichia coli* sayısı değerlerinin karşılaştırılması Tablo 6.5.'te verilmiştir.

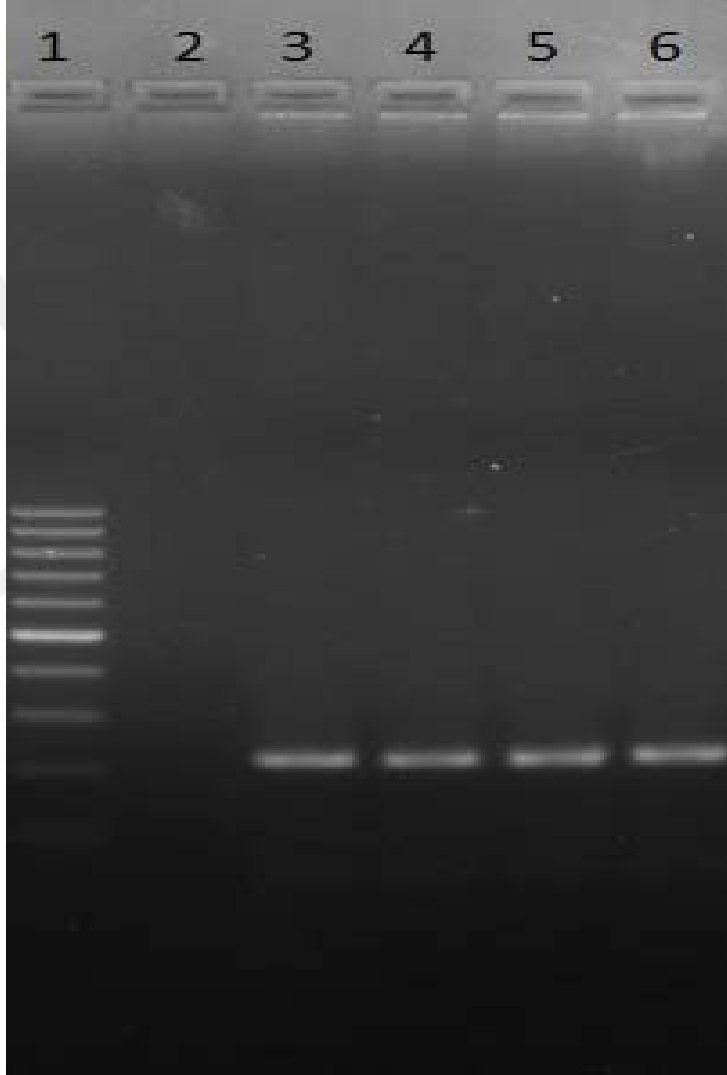
Yüksek yağlı diyet uygulaması bağırsakta bulunan *Esherichia coli* üremesini engelleyici özellikte istatistiki açıdan anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<005$). Gluten içeren diyet uygulamaları da aynı şekilde bağırsaktaki toplam *Esherichia coli* sayısı parametresinin üremesi üzerine negatif anlamda etkilidir ($p<005$). Her ne kadar yüksek yağ ve yüksek yağ + gluten grupları arasında *Esherichia coli* parametresinin üremesi üzerine anlamlı bir farklılık tespit edilmese de hem yüksek yağın hem de gluten uygulamasının tek başına diğer gruplar için istatistik açıdan anlamlı farklar saptanmıştır ($p<005$) (Tablo 6.5.).

Tablo 6. 5. İlişki Analizleri (Kendall's tau-b ilişki analiz tablosu): *Esherichia coli* parametresi açısından grupların ikili ilişkileri

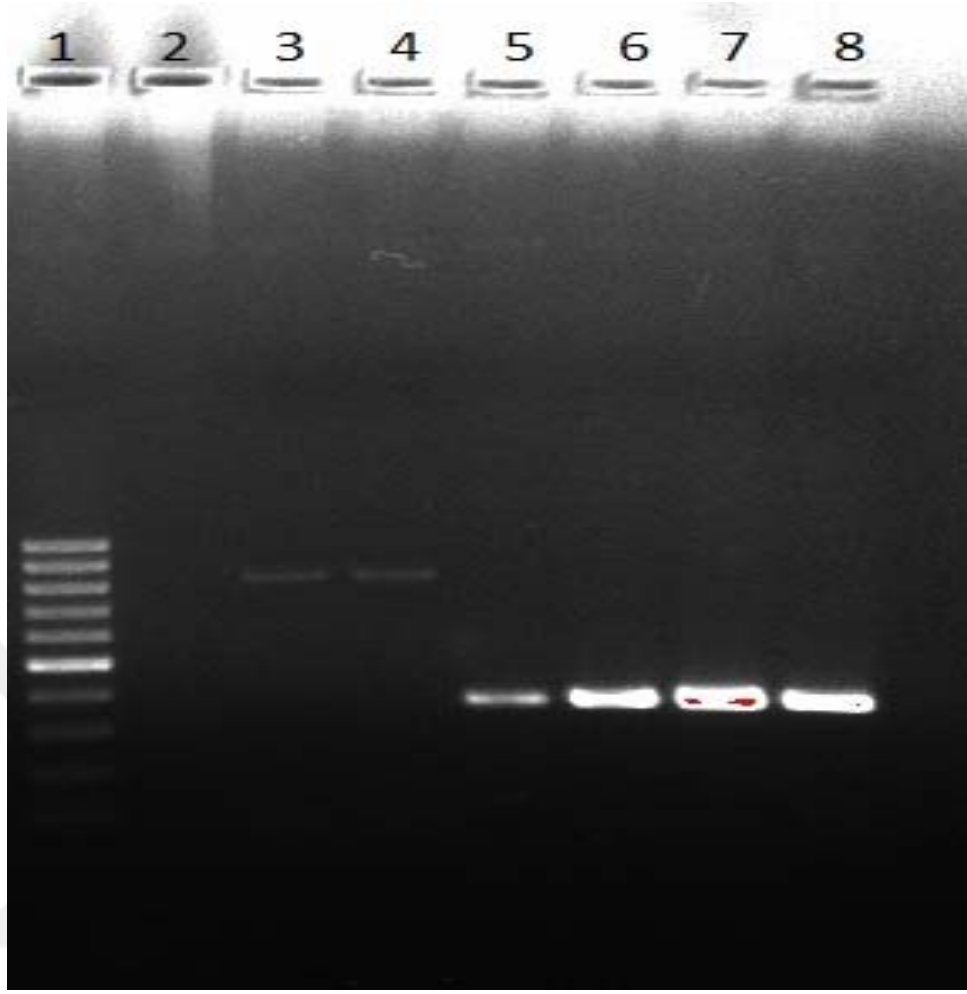
<i>Esherichia coli</i>	Kontrol	Yüksek Yağ	Yüksek Yağ + Gluten	Normal Diyet + Gluten
Kontrol000	.000	.087
p, r, N	1.000 1600	.616 1600	.761 1600	.068 1600
Yüksek Yağ	.000098	.003
p, r, N	.616 1600	1.000 1600	.078 1600	.020 1600
Yüksek Yağ + Gluten	.000	.098004
p, r, N	.761 1600	.078 1600	1.000 1600	.157 1600
Normal Diyet + Gluten	.087	.003	.004
p, r, N	.068 1600	.020 1600	.157 1600	1.000 1600

6.7. PCR

Çalışmada analiz edilen mikroorganizmaların PCR analizi neticesinde elde edilen agaroz jel görüntüleri Resim 6.1.ve Resim 6.2. 'de yer almaktadır.



Resim 6. 1. *Esherichia coli* suşlarının amplifiye PCR ürünlerinin agaroz jel elektrofez görüntüsü (1-SM, 3/6-*Esherichia coli* 23S/450, 2-negatif kontrol; SM: standart marker)



Resim 6. 2. *Lactobacillus spp.* amplifiye PCR ürünlerinin agaroz jel elektrofez görüntüsü (1-SM, 5/8- *Lactobacillus delbrueckii subs bulgaricus* 16s rRNA, 3/4- *Lactobacillus acidophilus* 16s rRNA, 2-negatif kontrol; SM: standart marker)

7. TARTIŞMA

Glutensiz diyetin yaygınlığı artmakta, son on yılda, Amerika Birleşik Devletleri'nde neredeyse her üç kişiden biri, gluteni diyetlerinden çıkarmaya çalışmaktadır. Bunun nedenlerinden birisinin de, gluten içermeyen diyetlerin genel sağlık için yararlı olduğu ve daha hızlı kilo kaybı sağladığı konusunda oluşturulan kamuoyu inancı olduğu düşünülmektedir (Bektaş A ve Özel M, 2018).

Glutensiz diyetlerin, kilo kontrolünde ve çeşitli bağırsak bağlantılı hastalıkların tedavisinde yaygın kullanımına rağmen, gluten ve obezite arasındaki ilişki ile gluten ve mikrobiyota arasındaki ilişki hala tutarsızdır ve literatürde çok az kontrollü çalışma vardır (Freire RH ve ark. 2016, Sanz Y, 2010, De Palma G ve ark. 2009, Biesiekierski JR ve ark. 2013).

Bu çalışmanın amacı gluten tüketiminin vücut ağırlığı ve mikrobiyotaya etkisini değerlendirmektir.

Danimarka'da, düşük glutenli diyet (günde 2 g gluten) ile yüksek glutenli diyetin (günde 18 g gluten) etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, enerji alımı değişmemiş olmasına rağmen, 8 haftalık düşük gluten diyetinde, yüksek glutenli diyet dönemine kıyasla, vücut ağırlığında ortalama 0.8 ± 0.3 kg azalma olduğu saptanmıştır (Hansen LBS ve ark. 2018), bizim çalışmamızda da bu çalışmada tespit edildiği gibi glutenin anlamlı derecede kilo kazanımına neden olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 6.1.). Düşük gluten alımının, yemek sonrası, iştah azalttığı bilinen bir hormon olan peptit YY (PYY) plazma konsantrasyonlarında artışa neden olduğu saptanmıştır. Düşük gluten müdahalesinin sonucunda vücut ağırlığındaki düşüşün, kısmen artan termojenez aracılığı ile olabileceği düşünülmektedir. Açlık durumunda, farelerde gluten alımının, glutensiz beslenen farelere kıyasla VO_2 ve enerji harcamasını azalttığı, bu durumun da termojenezi azalttığı düşünülmüştür. Gluten içeren diyet ile beslenen farelerden alınan tüm yağ dokularında, termogenin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (Hansen LBS ve ark. 2018, Freire RH ve ark. 2015).

Ayrıca Danimarka'da yapılan aynı çalışmada, iki diyet arasında değişen 14

bakteri türünden, özellikle *Bifidobacterium* türlerinin nispi bolluğunun, düşük glutenli diyet rejimine bağlı kaldıktan sonra sürekli olarak azaldığı ve yüksek gluten içeren diyet ile bağırsak mikrobiyotası için faydalı kabul edilen *Bifidobacterium* türünde artış gözlemlenmiştir (Hansen LBS ve ark. 2018). Bizim çalışmamızda *Bifidobacterium* bakılmamasına rağmen, gluten tüketiminin, bağırsak mikrobiyotası için faydalı kabul edilen *Lactobacillus* üretimini indüklediği saptanmıştır ($p<005$) (Tablo 6.3.). Çalışmada bu sonuç, gluten içeren tahılların alımındaki azalmaya bağlanmış, çalışmada yüksek gluten alan grupta tam tahıllıların tüketimi yüksek olarak saptanmıştır. Ancak bizim çalışmamızda gluten saf olarak uygulandığı için sonuç daha nettir.

Yapılan bir çalışmada da kilo alımı ve epididimal adipozite, glutensiz diyetle beslenen farelerde önemli ölçüde daha düşük olarak saptanmıştır (Soares FLP ve ark. 2013), başka bir çalışmada, standart diyetin yanında gluten verilen ve yüksek yağlı diyetin yanında gluten verilen gruplarda, ilgili kontrollerine kıyasla vücut ağırlığının arttığı saptanmıştır (Freire RH ve ark. 2015), bu iki çalışma da bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Bizim çalışmamızın aksine, glutensiz diyet ve yüksek yağın etkilerine bakılan bir çalışmada, glutenin vücut ağırlığına anlamlı bir etkide bulunmadığı (Haupt-Jorgensen ve ark. 2016), yapılan başka bir çalışmada ise gliadin eklenmesinin vücut ağırlığına herhangi bir etkide bulunmadığı saptanmıştır (Rune I ve ark. 2016). Bu farklılığın sebebi iki çalışmada da glutenin doğrudan beslenmeye eklenmemesi olabilir.

Yüksek yağlı diyetle buğday gluteni alımının *Firmicutes* ve *Lactobacillus* nispi bolluklarını azalttığı, ancak *Bacteroidetes*, *Bacteroidales_S24-7_group* ve *Ruminococcaceae*'nin nispi bolluklarını arttırdığı saptanmıştır. (Liang TT ve ark. 2019). Ancak bu çalışmada kıyaslama yapılan grup kazein ile beslendiği için bizim çalışmamızdan farklı çıkabilir. Kazein, yüksek oranda dallanmış zincirli amino asit (DZAA) içermesi nedeniyle özeldir, diyetle indüklenen obeziteyi azaltma potansiyeline sahip olmasının yanı sıra mikrobiyotayı etkilemektedir. Ayrıca kazein

alımının mikrobiyotada laktik asit bakterilerini arttırdığı bilinmektedir (Zhao F ve ark.2019).

Gluten içeren bir batı diyetiyle beslenen farelerin, en yüksek vücut ağırlığı artışı, adipozite ve daha büyük adiposit boyutu sergilediği saptanmıştır (Olivares M ve ark. 2019). Gluten alımının, subkutan yağda esmerleşme ve termojenez belirteçlerini azaltarak kilo artışına neden olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer olarak glutenin hem tek başına hem de yüksek yağlı diyet ile birlikte ağırlık artışına neden olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, bizden farklı olarak deneklere yüksek yağ ile birlikte yüksek sükroz içeren bir batı diyeti uygulanmıştır. Sükrozun, kilo artışı ve yağ birikimini tetiklediği bilinmektedir (Te Morenga ve ark. 2012).

Glutenin zararlı kısımlarından biri olan gliadinin, yağlı diyetin metabolik etkilerini etkileyip etkilemeyeceğini test etmeyi amaçlayan bir çalışmada, vücut ağırlığı gelişimi açısından fareler arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Gliadin verilen farelerinin dışkı örneklerinde gliadin almayan gruba göre 10 kat daha az *Lactobacillus* saptanırken, *Coriobacteriaceae*, *Enterorhabdus*, *Clostridium XI*, *Dorea* gibi fırsatçı patojenlere bol miktarda saptanmıştır (Zhang L ve ark. 2017). Bizim çalışmamızda ise glutenin, vücut ağırlığını arttırdığı ve *Lactobacillus* üretimini indüklediği ve *Esherichia coli* sayısı parametresinin üremesi üzerine negatif anlamda etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 6.5.). Bulgulardaki farklılığın sebebi bu çalışmanın 23 hafta, bizim çalışmamızın 4 hafta uygulanması ile kullanılan maddenin farklı olması (gliadin) olabilir. Bu çalışmada, ileal mikrobiyotadaki gliadin kaynaklı değişikliklerin, sıkı bağlantının (tight junction) azalması ve müsün proteini kodlayan genlerin azalması nedeniyle bağırsak bariyeri fonksiyonunda anormalliklere yol açtığı düşünülmektedir (Zhang L ve ark. 2017).

Bir çalışmada glutensiz diyetin, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* gibi insan sağlığı için yararlı kabul edilen bakteri popülasyonlarında önemli ölçüde azalmaya ve *C. lituseburensense* ve *F. prausnitzii* oranlarında azalmaya, *Escherichia coli* ve toplam *Enterobacteriaceae* gibi fırsatçı patojenlerin sayısında önemli ölçüde artışa neden olduğu saptanmıştır (De Palma G ve ark. 2009). Başka bir çalışmada bir ay boyunca

bir glutensiz diyeti takiben sağlıklı yetişkinlerin fekal mikrobiyotasında *Bifidobacterium*, *B. longum* ve *Lactobacillus* gibi sağlıklı bakterilerinin erozyona uğradığı ve sağlıksız bakterilerin arttığı (örn., *Enterobacteriaceae*, özellikle *E. coli*) gösterilmiştir (Sanz Y, 2010). Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamız ile uyumludur.

Çölyak hastalarında yapılan çalışmalarda, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* popülasyonlarında Gram-negatif bakterilere (*Bacteroides* ve *Escherichia coli*) göre azalmalar daha önce tedavi edilmemiş çölyak hastası çocuklarda ve tespit edilmiştir (Nadal I ve ark. 2007). Aslında, diyetten sonra *Escherichia coli* ve *Staphylococcus* gibi potansiyel olarak patojenik bakterilerin göreceli bolluğu azalsada, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi yararlı türlerin seviyeleri düşük olarak saptanmıştır. Nistal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, (Nistal E ve ark. 2012) glutensiz diyeti takiben, çölyak hastalarında *Streptococcus* ve *Prevotella* düzeylerinde bir azalma olduğu saptanmıştır. Ancak *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacteria* gibi sağlıklı bakterilerin azalması ve *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Klebsiella* gibi zararlı türlerin arttığı bildirilmiştir (Di Cagno R ve ark. 2011). Ayrıca son zamanlarda yapılan bir çalışmada, çölyak hastalarında en az 2 yıl süren bir glutensiz diyet sonrasında, düşük miktarda *Bifidobacterium* türü gözlemlenmiştir (Golfetto L ve ark. 2014). Glutensiz diyetin, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* dahil olmak üzere yararlı bakteri türlerinde azalmaya ve *Enterobacteriaceae*'nin artışına işaret ettiğini gösteren başka bir çalışma, Palma ve ark. tarafından yapılmıştır (De Palma G ve ark. 2014). Bu çalışmalar ile bizim çalışmamızda *Lactobacillus*'un gluten tüketiminde artması ile uyumludur.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

8.1. Sonuç

Yüksek yağlı diyet ile beslenen fareler üzerinde yapılan çalışmada; glutenin vücut ağırlığına ve mikrobiyotaya olan etkilerini saptamak amaçlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları;

1. Bu çalışmada gluten ve yüksek yağlı diyet uygulamalarının kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı derecede kilo kazanımına neden olduğu saptanmıştır ($p<005$).

2. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı parametresi açısından gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>005$).

3. *Lactobacillus bulgaricus* parametresi için diyetlere gluten eklenmesinin söz konusu mikrobiyolojik parametre ile pozitif yönde (glutenin etkenin üremesini stimüle etmesi yönünde) istatistik açıdan anlamlı olacak şekilde etkili olduğu bulunmuştur ($p<005$).

4. Yüksek yağ ile diyet uygulamasının, bağırsakta bulunan toplam koliform grubu sayısı bakterilerinin üremesini engelleyici özellikte olduğu elde edilmiştir ($p<005$).

5. Gluten içeren diyet uygulamalarının, bağırsaktaki toplam koliform grubu bakteri sayısı parametresinin üremesi üzerine negatif anlamda etkili olduğu saptanmıştır ($p<005$).

6. Yüksek yağ ile diyet uygulamasının bağırsakta bulunan *Esheria coli* üremesini engelleyici özellikte bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p<005$).

7. Gluten içeren diyet uygulamalarının, bağırsaktaki toplam *Esheria coli* sayısı parametresinin üremesi üzerine negatif anlamda etkili olduğu saptanmıştır ($p<005$).

8.2. Öneriler

Glutensiz diyetin yaygınlığı son yıllarda artış göstermekte ve bu artışın sebebinin, glutensiz diyetin, çölyak hastalığı gibi glutene bağlı hastalıkların

tedavisi olarak kullanılmasının yanı sıra glutene bağı bir hastalık taşımayan insanlar tarafından kilo verme amacıyla kullanması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Glutensiz diyetin hem vücut ağırlığı hem mikrobiyota üzerine olan etkisi tartışmalıdır ve bu konu üzerine çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Çalışmamız, glutenin hem kilo hem de mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiği için mevcut literatüre göre öne çıkmaktadır. Çalışmamızda gluten tüketiminin hem normal diyet ile hem de yüksek yağlı diyet ile birlikte, kilo alımına neden olduğu ancak mikrobiyota üzerine pozitif etkilere sahip olduğu saptanmıştır. Glutensiz diyetin kullanıldığı durumlarda, mikrobiyotaya pozitif etkisi bulunan probiyotiklerin ve prebiyotiklerin beslenmeye eklenmesi önerilebilir. Ancak çalışmamızın sınırlılıkları nedeniyle hem deneysel hem de klinik olarak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

9. KAYNAKLAR

Altuntaş Y, Batman A. Mikrobiyota ve metabolik sendrom. Turk Kardiyol Dern Ars. 45(3);286–296, 2017.

Arı Z, Ulman C, Taneli F, İşbilen B, Uyanık BS, Aldırmaz H ve ark. Yağ İçerikli Diyet ile Beslenen Sıçanların Arka Bacak Kasında Dehidroepiandrosteron Sülfatın Oksidan Durum Belirteçleri ile Bakır ve Çinko Düzeylerine Etkisi. Turk J Biochem. 33 (1); 1–8, 2008.

Atılgan S. Kefir Danesi Ve Kefir Starter Kültürü İle Üretilen Kefirlerin İn Vivo Olarak Probiyotik Potansiyellerinin Qpcr İle Belirlenmesi. S.D.U. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s.25, Isparta, 2018.

Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc Natl Acad Sci USA 101(44);15718–15723, 2004.

Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. Cell Host Microbe. 12(5);611–622, 2012.

Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc Natl Acad Sci USA. 104(3);979–984, 2007.

Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, KovatchevaDatchary P et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. Cell Host Microbe 17(5);690–703, 2015.

Bascuñán KA, Roncoroni L, Branchi F, Doneda L, Scricciolo A, Ferretti F et al. The 5 Ws of a gluten challenge for gluten-related disorders. Nutrition Reviews, 76(2):79–

87, 2018.

Bascuñán KA, Vespa MC, Araya M. Celiac disease: Understanding the gluten-free diet. *Eur. J. Nutr.* 56(2):449–459, 2017.

Bektaş A, Özel M. Gluten: Dost mu Düşman mı? *Güncel Gastroenteroloji.* 22(2);127-134, 2018.

Biesiekierski JR, Muir JG, Gibson PR. Is gluten a cause of gastrointestinal symptoms in people without celiac disease? *Curr Allergy Asthma Rep.* 13(6);631-8, 2013.

Boey D, Lin S, Enriquez RF, Lee NJ, Slack K, Couzens M et al. PYY transgenic mice are protected against diet-induced and genetic obesity. *Neuropeptides*, 42(1), 19–30, 2008.

Boon MR, van den Berg SA, Wang Y, van den Bossche J, Karkampouna S, Bauwens M, et al. BMP7 activates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity only at subthermoneutrality. *PLoS One.* 8(9);e74083, 2013.

Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L, Daniels D et al. The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *J Biol Chem.* 278(13):11312-9, 2003.

Canfora, EE, van der Beek CM, Jocken JWE, Goossens GH, Holst JJ, Olde Damink SWM et al. Colonic infusions of short-chain fatty acid mixtures promote energy metabolism in overweight/obese men: a randomized crossover trial. *Sci. Rep.* 7(1):2360, 2017.

Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 84(1);277-359, 2004.

Cheng J, Brar PS, Lee AR, Green PH. Body mass index in celiac disease: beneficial

effect of a gluten-free diet. *J Clin Gastroenterol.* 44(4):267-271, 2010.

Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *J. Clin. Pathol.* 62(3):264–269, 2009.

Conterno L, Fava F, Viola R, Tuohy KM. Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? *Genes Nutr.* 6(3);241–260, 2011.

Corrêa TAF, Rogero MM, Hassimotto NMA, Lajolo FM. The Two-Way Polyphenols-Microbiota Interactions and Their Effects on Obesity and Related Metabolic Diseases. *Front Nutr.* 6:188, 2019.

Damms-Machado A, Mitra S, Schollenberger AE, Kramer KM, Meile T, Königsrainer A et al. Effects of surgical and dietary weight loss therapy for obesity on gut microbiota composition and nutrient absorption. *BioMed Res Int.* 2015:1–12, 2015.

Dao MC, Klement C. Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care. *Eur J Intern Med.* 48:18-24, 2018.

De Angelis M, Vannini L, Di Cagno R, Cavallo N, Minervini F, Francavilla R et al. Salivary and fecal microbiota and metabolome of celiac children under gluten-free diet. *Int. J. Food. Microbiol.* 19(239):125–132, 2016.

De Graaf AA, Venema K. Gaining insight into microbial physiology in the large intestine: a special role for stable isotopes. *Adv Microb Physiol* 53:73–168, 2008.

De Palma G, Collins SM, Bercik P, Verdu EF. The microbiota-gut-brain axis in gastrointestinal disorders: Stressed bugs, stressed brain or both? The microbiota-gut-brain axis. *J. Physiol.* 592(14);2989–2997, 2014.

De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br. J. Nutr.* 102(08);1154–1160, 2009.

De Vuyst L, Leroy F. Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production, and gas production. *Int J Food Microbiol.* 149(1);73-80, 2011.

Deng T, Shan S, Li PP, Shen ZF, Lu XP, Cheng J et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma transcriptionally up-regulates hormone-sensitive lipase via the involvement of specificity protein-1. *Endocrinology.* 147(2);875-84, 2006.

Di Cagno R, De Angelis M, De Pasquale I, Ndagijimana M, Vernocchi P, Ricciuti P et al. Duodenal and faecal microbiota of celiac children: Molecular, phenotype and metabolome characterization. *BMC Microbiol.* 11(1):219, 2011.

Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol.* 41(4);408-19, 2006.

El-Chammas K, Danner E. Gluten-free diet in nonceliac disease. *Nutr. Clin. Pract.* 26:294–299, 2011.

Flint HJ, Bayer EA, Rincon MT, Lamed R, White BA. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat Rev Microbiol* 6(2);121–131, 2008.

Freire RH, Fernandes LR, Silva RB, Coelho BSL, de Araújo LPT, Ribeiro LS et al. Wheat gluten intake increases weight gain and adiposity associated with reduced thermogenesis and energy expenditure in an animal model of obesity. *International Journal of Obesity*, 40(3);479–486, 2015.

Gajardo K, Jaramillo-Torres A, Kortner TM, Merrifield DL, Tinsley J, Bakke AM et al. Alternative Protein Sources in the Diet Modulate Microbiota and Functionality in the Distal Intestine of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Applied and Environmental Microbiology*. 83(5): e02615-16, 2017.

Galipeau HJ, McCarville JL, Huebener S, Litwin O, Meisel M, Jabri B, et al. Intestinal microbiota modulates gluten-induced immunopathology in humanized mice. *Am J Pathol*. 185(11):2969-82, 2015.

Garcia-Mazcorro JF, Noratto G, Remes-Troche JM. The effect of gluten-free diet on health and the gut microbiota cannot be extrapolated from one population to others. *Nutrients*. 10(10):1421, 2018.

Golfetto L, de Senna FD, Hermes J, Beserra BTS, França F, França FDS et al. Lower bifidobacteria counts in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet. *Arq. Gastroenterol*. 51(2):139–143, 2014.

Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*, 9(4):308–325, 2018.

Guo, Y, Ma L, Enriori PJ, Koska J, Franks PW, Brookshire T et al. Physiological evidence for the involvement of peptide YY in the regulation of energy homeostasis in humans. *Obesity* 14(9):1562-70, 2006.

Halkman AK. *Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları*. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ankara, 2005.

Hansen LBS, Roager HM, Søndertoft NB, Gøbel RJ, Kristensen M, Vallès-Colomer M et al. A low-gluten diet induces changes in the intestinal microbiome of healthy Danish adults. *Nat Commun*. 9(1):4630, 2018.

Hitchins AD, Feng P, Watkins WD, Rippey SR, Chandler LA. *Escherichia coli* and

the coliform bacteria. Food and drug administrations, p. 4.01–4.29, 8 th Edition. Washington, DC: AOAC International, 2000.

Haupt-Jorgensen M, Buschard K, Hansen AK, Josefsen K, Antvorskov JC. Gluten-free diet increases beta-cell volume and improves glucose tolerance in an animal model of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* . 32(7):675-684, 2016.

Hoppe C, Gøbel R, Kristensen M, et al. Intake and sources of gluten in 20-to 75-year-old Danish adults: a national dietary survey. *Eur. J. Nutr.* 56(1); 107-117, 2015.

Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factoralpha. *J Clin Invest.* 94(4);1543-1549, 1994.

Huang XZ, Zhu LB, Li ZR, & Lin J. Bacterial colonization and intestinal mucosal barrier development. *World J. Clin. Pediatr.* 2(4):46–53, 2013.

Ijaz MU, Ahmed MI, Zou X, Hussain M, Zhang M, Zhao F, et al. Beef, Casein, and Soy Proteins Differentially Affect Lipid Metabolism, Triglycerides Accumulation and Gut Microbiota of High-Fat Diet-Fed C57BL/6J Mice. *Front Microbiol.* 9:2200, 2018.

Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans *J Am J Clin Nutr.* 94(1):58-65, 2011.

Kar SK, Jansman AJM, Benis N, RamiroGarcia J, Schokker D, Kruijt L et al. Dietary protein sources differentially affect microbiota, mTOR activity and transcription of mTOR signaling pathways in the small intestine. *PLoS ONE* 12(11);e0188282, 2017.

Kim H, Demyen MF, Mathew J, Kothari N, Feurdean M, Ahlawat SK. Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk in Gluten-Free Followers Without Celiac Disease in the United States: Results from the National Health and Nutrition

Examination Survey 2009–2014. *Digestive Diseases and Sciences*, 62(9);2440–2448, 2017.

Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*. 4:1829, 2013.

Kong L, Tap J, Aron-Wisnewsky J, Pelloux V, Basdevant A, Bouillot J et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr*. 98(1);16–24, 2013.

Kopecky J, Clarke G, Enerbäck S, Spiegelman B, Kozak LP. Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the aP2 gene promoter prevents genetic obesity. *J Clin Invest*. 96(6);2914-2923, 1995.

Kucek LK, Veenstra LD, Amnuaycheewa P, et al. A grounded guide to gluten: how modern genotypes and processing impact wheat sensitivity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. 14:285–302, 2015.

Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 500(7464);541-6, 2013.

Lee JY, Hashizaki H, Goto T, Sakamoto T, Takahashi N, Kawada T. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α enhances fatty acid oxidation in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 407(4);818-822, 2011.

Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102(31);11070–11075, 2005.

Liang TT, Tong LT, Geng DH, Wang LL, Zhou XR, Pu HY, Jia W, Wu QP, Huang JR. Wheat Gluten Regulates Cholesterol Metabolism by Modulating Gut Microbiota

in Hamsters with Hyperlipidemia. *J Oleo Sci.* 68(9):909-922, 2019.

Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes.* 50(9):2094-9, 2001.

Mancabelli L, Milani C, Lugli GA, Turrone F, Mangifesta M, Viappiani A et al. Unveiling the gut microbiota composition and functionality associated with constipation through metagenomic analyses. *ISME J.* 11(12): 2834–2847, 2017.

Marasco G, Di Biase AR, Schiumerini R, Eusebi LH, Iughetti L, Ravaioli F et al. Gut Microbiota and Celiac Disease. *Dig. Dis. Sci.* 61(6):1461-72, 2016.

McAllan L, Skuse P, Cotter PD, O'Connor P, Cryan JF, Ross RP et al. Protein quality and the protein to carbohydrate ratio within a high fat diet influences energy balance and the gut microbiota in C57BL/6J mice. *PLoS One.* 10;9(2):e88904, 2014.

Menta PLR, Andrade MER, Leocádio PCL, Fraga JR, Dias MTS, Cara DC et al. Wheat gluten intake increases the severity of experimental colitis and bacterial translocation by weakening of the proteins of the junctional complex. *Br J Nutr.* 121(4):361-373, 2019.

Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev* 81(4):e00036-17, 2017.

Miranda VPN, Dos Santos Amorim PR, Bastos RR, de Faria ER, de Castro Moreira ME, do Carmo Castro Franceschini S et al. Abundance of Gut Microbiota, Concentration of Short-Chain Fatty Acids, and Inflammatory Markers Associated with Elevated Body Fat, Overweight, and Obesity in Female Adolescents. *Mediators Inflamm.* 2019:7346863, 2019.

Nadal I, Donat E, Donant E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J. Med. Microbiol.* 56(Pt 12):1669–1674, 2007.

Nistal E, Caminero A, Herrán AR, Arias L, Vivas S, Ruiz De Morales J.M et al. Differences of small intestinal bacteria populations in adults and children with/without celiac disease: Effect of age, gluten diet, and disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 18(4):649-56, 2012.

Olivares M, Rodriguez J, Pötgens SA, Neyrinck AM, Cani PD, Bindels LB, Delzenne NM. The Janus Face of Cereals: Wheat-Derived Prebiotics Counteract the Detrimental Effect of Gluten on Metabolic Homeostasis in Mice Fed a High Fat/High Sucrose Diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(24): 1900632, 2019.

Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer, C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2:104, 2012.

Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 11(2):85-97, 2011.

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5(7);e177, 2007.

Pingitore A, Chambers ES, Hill T, Maldonado IR, Liu B, Bewick G et al. The diet-derived short chain fatty acid propionate improves beta-cell function in humans and stimulates insulin secretion from human islets in vitro. *Diabetes Obes Metab.* 19(2), 257–265, 2016.

Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* 341(6150);1241214, 2013.

Roberts LD, Boström P, O'Sullivan JF, Schinzel RT, Lewis GD, Dejam A et al. β -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β -oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. *Cell. Metab.* 19(1): 96–108, 2014.

Ruth MR, Field CJ. The immune modifying effects of amino acids on gut-associated lymphoid tissue. *J Anim Sci Biotechnol.* 4(1);27, 2013.

Rune I, Rolin B, Larsen C, Nielsen DS, Kanter JE, Bornfeldt KE, Lykkesfeldt J et al. Modulating the Gut Microbiota Improves Glucose Tolerance, Lipoprotein Profile and Atherosclerotic Plaque Development in ApoE-Deficient Mice. *PLoS One* . 11(1):e0146439, 2016.

Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans. *Gut Microbes.* 1(3);135-7, 2010.

Sanz Y, Olivares M, Moya-Pérez Á, Agostoni C. Understanding the role of gut microbiome in metabolic disease risk. *Pediatr. Res.* 77(1-2), 236–44, 2015.

Schippa S, Lebba V, Barbato M, Di Nardo G, Totino V, Checchi MP et al. A distinctive “microbial signature” in celiac pediatric patients. *BMC Microbiol.* 10:175, 2010.

Sender R, Fuchs S, Milo R, Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.* 14(8):e1002533, 2016.

Shewry PR, Lookhart GL. Wheat gluten protein analysis. p. 1-17, Amer Assn of Cereal Chemists: St Paul, Minnesota, USA, 2003.

Shewry PR. Wheat. *J. Exp. Bot.* 60(6): 1537–53, 2009.

Soares FL, de Oliveira Matoso R, Teixeira LG, Menezes Z, Pereira SS, Alves AC et

al. Gluten-free diet reduces adiposity, inflammation and insulin resistance associated with the induction of PPAR-alpha and PPAR-gamma expression. *J Nutr Biochem.* 24(6):1105-11, 2013.

Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol* 9(4):279–290, 2011.

Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99(24):15451–15455, 2002.

Swiątecka D, Złotkowska D, Markiewicz LH, Szyc AM, Wróblewska B. Impact of whey proteins on the systemic and local intestinal level of mice with diet induced obesity. *Food Funct.* 19;8(4);1708-1717, 2017.

Te Morenga L, Mallard S, Mann J. Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies. *BMJ*, 346(jan15 3), e7492–e7492, 2012.

Tjellström B, Högberg L, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K, Magnusson KE, Norin E et al. Faecal short-chain fatty acid pattern in childhood coeliac disease is normalised after more than one year's gluten-free diet. *Microb Ecol Heal Dis.* 24: 10.3402/mehd.v24i0.20905, 2013.

Troncone R, Caputo N, Zibella A, Moliterno G, Maiuri L, Auricchio S. Effects of gluten enriched diet on the small intestinal mucosa of normal mice and mice with graft versus host reaction. *Gut.* 35(6);779-82, 1994.

Tunail N, Özkaya FD, Gürsel A, Tamuçay B. Starter Bakterilerin Oluşturdukları Biyojen Aminlerin Saptanması ve Salamura Beyaz Peynirdeki Biyojen Amine Bağlı Risk Faktörünün Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu, Proje No: 96–11–12–04, Ankara, 2001.

Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JJ. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med.* 11;1(6):6ra14, 2009.

US Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual (BAM), 2001,

<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>

U.S. Department Of Agriculture (USDA). Vital wheat gluten, 2019,
<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168147/nutrients>

Yılmaz K, Altındış M. Sindirim sistemi mikrobiyotası ve fekal transplantasyon. *Nobel Med.* 13(1); 9-15, 2017.

Yan J, Charles JF. Gut Microbiota and IGF-1. *Calcified Tissue International*, 102(4):406–414, 2018.

Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *PNAS.* 106(7):2365–70, 2009.

Zhang L, Andersen D, Roager HM, Bahl MI, Hansen CHF, Danneskiold-Samsøe NB et al. Effects of Gliadin consumption on the Intestinal Microbiota and Metabolic Homeostasis in Mice Fed a High-fat Diet. *Sci Rep.* 7(1):44613, 2017.

Zhao F, Song S, Xu X, Zhou G, Li C. A short-term feeding of dietary casein increases abundance of *Lactococcus Lactis* and upregulates gene expression involving obesity prevention in cecum of young rats compared with dietary chicken protein. *Front. Microbiol.* 10:2411, 2019.

Zong G, Lebowitz B, Hu FB, Sampson L, Dougherty LW, Willett WC et al. Gluten intake and risk of type 2 diabetes in three large prospective cohort studies of US men and women. *Diabetologia.* 61(10):2164-2173, 2018.

Wacklin P, Laurikka P, Lindfors K, Collin P, Salmi T, Lähdeaho ML et al. Altered duodenal microbiota composition in celiac disease patients suffering from persistent symptoms on a long-term gluten-free diet. *Am. J. Gastroenterol.* 109(12): 1933–1941, 2014.

Walters WA, Xu Z, Knight, R. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD. *FEBS Lett.* 588(22): 4223–4233, 2014.

Wieser H. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol.* 24(2): 115–119, 2007.



10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.53850
Konu : Etik Kurulu Kararı

30/09/2019

Sayın Dr. Öğr. Üye. Nihal Zekiye ERDEM

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Obez Farelerde Diyet Gluteninin Vücut Ağırlığı ve Mikrobiyotaya Etkisi” isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

Ek:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 30.09.2019 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağımıza <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 981EB01DX5 kodu ile doğrulayabiliriz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacak Mah. Ekinçiler Cad. No.19 Kavacak Kavşağı - Beykoz
34810 İstanbul

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
25/09/2019	62		Dr. Öğr. Üye. Nihal Zekiye ERDEM

"Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Obez Farelerde Diyet Gluteninin Vücut Ağırlığı ve Mikrobiyotaya Etkisi" başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna "Oybirliği" ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 ay

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Burak ÇAĞLAYAN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet OZANSOY	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm. Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Cem GÜNEŞ	
Üye	Burak Sefa DERİBAŞ	



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-772.02-E.61203
Konu : Etik Kurulu Kararı

13/11/2020

Sayın Merve SAYIN

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 30/09/2020 tarihli 62 karar no ile onay verilen "Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Obez Farelerde Diyet Gluteninin Vücut Ağırlığı ve Mikrobiyotaya Etkisi" isimli çalışmanızın başlığını "Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Farelerde Diyet Gluteninin Vücut Ağırlığı ve Mikrobiyotaya Etkisi" olarak değiştirilmesi isteğiniz uygun bulunmuş olup kayıt altına alınmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ tarafından 13.11.2020 tarihinde e-İmzalanmıştır. Evrağımıza <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 5E76C7F3X4 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinciler Cad. No.19 Kavacık Kavşağı - Beykoz
34810 İstanbul

Tel: 444 85 44

**İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr**