



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Farmakoloji

[Yüksek Lisans Tezi]

**YAPAY TATLANDIRICILARIN RATLARDA BAĞIRSAK  
MİKROBİYOTASININ MODÜLASYONU VE GLİSEMİ DÜZEYLERİ İLE  
İLİŞKİSİNİN VE KUERSETİN'İN BU PARAMETRELER ÜZERİNDEKİ  
POTANSİYEL ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Zahide YILDIZ

ORCID: 0000-0003-3726-378X

Danışman

Doç. Dr. İpek DUMAN

ORCID: 0000-0002-0079-6374

Bu tez çalışması BAP tarafından 23YL18001 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2024



## ÖN SÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince ve tez dönemimin her anında değerli fikirlerini benimle paylaşan, yardımlarını ve sonsuz desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. İpek Duman'a teşekkür ve saygılarımı sunarım. Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini aktararak yardımcı olan ve her zaman yeni bakış açıları kazanmamı sağlayan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri, Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin, Prof. Dr. Kısmet Esra Nurulloğlu Atalık ve Prof. Dr. Salim Yalçın İnan'a teşekkür ederim. Çalışmadaki verilerin istatistiksel analizleri, Öğr. Gör. Mehmet Sinan İyisoy'un değerli katkılarıyla gerçekleştirilmiş olup, kendisine teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın bütçesi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanmıştır. Deney hayvanlarının bakımı, KONÜDAM ekibinin özverili yardımlarıyla gerçekleştirilmiştir. Bu destekleri için tüm kişi ve kurumlara içtenlikle teşekkür ederim. Beni her zaman destekleyen ve yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Zahide YILDIZ

Haziran 2024

## İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TEZ ONAY SAYFASI.....	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU .....	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ .....	viii
SİMGELER .....	ix
KISALTMALAR.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>5</b>
2.1. Bağırsak Mikrobiyotasının Tanımı .....	5
2.1.1. Bağırsak mikrobiyotasının içeriği ve genel yapısı .....	6
2.1.2. Bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı için önemi .....	11
2.1.3. Bağırsak mikrobiyotası ve glukoz homeostazı ilişkisi.....	14
2.2. Yapay Tatlandırıcılar.....	21
2.2.1. Kalorisiz tatlandırıcıların çeşitleri ve özellikleri .....	24
2.2.2. Yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotası ve glisemi ile ilişkisi.....	29
2.3. Kuersetin .....	33
2.3.1. Kuersetinin farmakolojik etkisi .....	34
2.3.2. Kuersetinin bağırsak mikrobiyotası ve glisemi ile ilişkisi .....	35
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>39</b>
3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı .....	39
3.2. Araştırmanın Örneklemi ve Deney Protokolü.....	39
3.3. Veri Toplama ve Analiz .....	40
3.3.1. Kan glukoz seviyesi ölçümleri .....	40
3.3.2. Vücut ağırlığı ölçümleri .....	40
3.3.3. Su tüketimi takibi .....	40
3.3.4. Gaita örneklerinin alınması ve mikrobiyota analizi .....	41
3.4. İstatistiksel Analiz .....	41
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>43</b>
4.1. Vücut Ağırlıkları .....	43

4.2. Kan Glukoz Seviyeleri .....	44
4.3. Mikrobiyota Analizleri .....	46
4.3.1. Alfa çeşitlilik analizleri .....	50
4.3.2. Beta çeşitlilik analizleri .....	54
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
5.1. Sukralozun Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi .....	57
5.2. Asesülfam K'nın Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi .....	59
5.3. Kuersetinin Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi .....	61
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>65</b>
6.1. Sonuç .....	65
6.2. Öneriler .....	66
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>69</b>
<b>8. EKLER .....</b>	<b>83</b>
8.1. Tez İçin Gerekli İzin ve Onamlar .....	83
8.1.1. Etik kurul kararı .....	83

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zahide YILDIZ**'ın “**Yapay Tatlandırıcıların Ratlarda Bağırsak Mikrobiyotasının Modülasyonu ve Glisemi Düzeyleri ile İlişkisinin ve Kuersetin'in Bu Parametreler Üzerindeki Potansiyel Etkisinin İncelenmesi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 26/06/2024

Tez Danışmanı	Doç. Dr. İpek DUMAN Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Mehmet ÖZ Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 10/07/2024 tarih ve 14/09 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

## TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

“Yapay Tatlandırıcıların Ratlarda Bağırsak Mikrobiyotasının Modülasyonu Ve Glisemi Düzeyleri İle İlişkinin Ve Kuersetin'in Bu Parametreler Üzerindeki Potansiyel Etkisinin İncelenmesi” başlıklı tez çalışmamın toplam **59** sayfalık kısmına ilişkin, 31.05.2024 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%4** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

31.05.2024

Zahide YILDIZ

Danışman Doç. Dr. İpek DUMAN

## **BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

26.06.2024

Zahide YILDIZ

## **SİMGELER**

dL: desilitre

g: gram

kg: kilogram

mg: miligram

ml: mililitre

## **KISALTMALAR**

Asesülfam K: Asesülfam potasyum

FAO: Gıda ve Tarım Örgütü

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GIP: Glukoza bağlı insülinotropik peptit

GKEAM: Günlük kabul edilebilir alım miktarı

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

GPR: G protein bağlı reseptör

HbA1c: Hemoglobin A1c

IARC: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı

IFN: İnterferon

IgA: İmmüoglobulin A

IL: İnterlökin

JECFA: Gıda Katkıları WHO ve FAO Ortak Uzmanlar Komitesi

KONÜDAM: Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi

OTU: Operational taxonomic unit

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA: Ribonükleik asit

SCFA: Kısa zincirli yağ asidi

Tip 2 DM: Tip 2 diabetes mellitus

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo 2.1. İnsan Bağırsak Mikrobiyotasının Genel Yapısı.....	7
Tablo 2.2. Firmicutes filumuna ait bakteri çeşitleri.....	8
Tablo 2.3. Bacteroidetes filumuna ait bakteri çeşitleri.....	9
Tablo 2.4. Actinobacteria filumuna ait bakteri çeşitleri.....	10
Tablo 2.5. Proteobacteria filumuna ait bakteri çeşitleri.....	10
Tablo 2.6. Kalorisiz tatlandırıcıların özelliklerinin karşılaştırılması ve GKEAM.....	24
Tablo 2.7. Kuersetinin çeşitli özelliklerinin etki mekanizması.....	35
Tablo 3.1. Amplikon PCR’da kullanılan barkodlu evrensel oligonükleotidler.....	41
Tablo 4.1. Deney gruplarının ağırlık ortalamaları (gram).....	44
Tablo 4.2. Deney gruplarının zamana göre kan glukoz seviyesi ortalamaları (mg/dL).....	46
Tablo 4.3. Deney gruplarının toplam OTU (Operational taxanomic unit) sayıları.....	47
Tablo 4.4. Deney gruplarının şubeye göre bakteri oranları.....	49

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Kuersetinin bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla metabolik bozukluklardaki işlevi.....	37
Şekil 4.1. Deney gruplarının vücut ağırlık artışları (gram).....	43
Şekil 4.2. Kontrol ve Kuersetin grubunun kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL).....	45
Şekil 4.3. Kontrol, Asesülfam K ve Asesülfam K+Kuersetin gruplarının kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL).....	45
Şekil 4.4. Kontrol, Sukraloz ve Sukraloz+Kuersetin gruplarının kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL).....	46
Şekil 4.5. Deney gruplarının şubeye göre mikrobiyota profilleri.....	48
Şekil 4.6. Deney gruplarının Firmicutes / Bacteroidota oranı.....	49
Şekil 4.7. Deney gruplarının aile seviyesindeki mikrobiyota çeşitliliği.....	50
Şekil 4.8. Deney gruplarının Shannon Entropy indeksine göre tür çeşitliliği.....	51
Şekil 4.9. Deney gruplarının Faith's PD indeksine göre filogenetik çeşitliliği.....	52
Şekil 4.10. Faith's PD indeksine göre Alfa Seyreltme (Rarefaction) Analizi.....	53
Şekil 4.11. Deney Gruplarının Pielou düzgünlüğü indeksine göre gösterimi.....	54
Şekil 4.12. Bray-Curtis PCoA analizinin gösterimi.....	55
Şekil 4.13. Jaccard PCoA analizinin gösterimi.....	55

## ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı  
Tıbbi Farmakoloji  
[Yüksek Lisans Tezi]

### YAPAY TATLANDIRICILARIN RATLARDA BAĞIRSAK MİKROBİYOTASININ MODÜLASYONU VE GLİSEMİ DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİNİN VE KUERSETİN'İN BU PARAMETRELER ÜZERİNDEKİ POTANSİYEL ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Zahide Yıldız

Konya-2024

İnsan bağırsak mikrobiyotasının çeşitli metabolik, fizyolojik ve immünolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bağırsakta mikrobiyota dengesinin korunması insan sağlığı için hayati önem taşımaktadır; ancak bu denge, gıda katkı maddeleri de dahil, çeşitli dış etkenler tarafından bozulabilmektedir. Yapay tatlandırıcılardan sukraloz ve asesülfam K, kontrollü kalori tüketimi sağlamak, metabolik sendromun ve eşlik eden hastalıkların komplikasyonlarını azaltmak için sukroza alternatif olarak kullanılan güvenli gıda katkı maddeleridir. Sukraloz ve asesülfam potasyumun bağırsak mikrobiyotası ve glisemi düzeylerine fonksiyonel etkisi tam anlamıyla bilinmemektedir. Kuersetin ise bağırsak mikrobiyotası üzerindeki modülatör etkilerine bağlı bağırsak disbiyozuyla mücadele için kullanılan önemli polifenollerden biridir. Çalışmamızda sukraloz ve asesülfam potasyumun bağırsak mikrobiyotası ve kan glukoz düzeylerine etkisi ile birlikte diyet kaynağı olarak kuersetin alınmasının bu sonuçlardaki potansiyel etkisi incelenmiştir.

Wistar albino türü ratlar, kontrol grubu ve yalnız kuersetin verilen grup dışında 42 gün boyunca içme suyunda asesülfam potasyum veya sukraloza maruz bırakılmış ve bazı gruplara oral gavaj yoluyla kuersetin verilmiştir. Çalışmada deney başlangıcında ve deney süresinde 6 defa açlık kan glukoz seviyesi ölçülerek, ortalamaların analizleri yapılmış ve deney başında, ortasında ve sonunda 3 defa bütün hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Deney sonunda alınan gaita örneklerinden 16s rRNA sekanslaması ile mikrobiyota kompozisyonları saptanmıştır.

Çalışma sonunda bütün gruplarda vücut ağırlığındaki değişim ve açlık kan glukozu seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik göstermemiştir. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla en az artışın Kuersetin (TK) grubunda olmak üzere, bütün gruplarda Firmicutes filumuna ait bakterilerin arttığı görülmüştür. En az OTU (Operational Taxonomic Unit) sayısı Asesülfam K (A) grubunda, en fazla OTU sayısı ise Kuersetin (TK) grubunda tespit edilmiştir. Asesülfam K ve sukraloz verilen gruplarda azalmış olarak gözlenen OTU sayılarında, bu gruplara kuersetin eklenmesiyle artış saptanmıştır. Ayrıca kuersetinin, Asesülfam K+kuersetin (AK) grubunda alfa çeşitliliğini Asesülfam K grubuna göre kontrol grubuna yaklaştırdığı görülmüştür. Alfa çeşitlilik analizlerinde Sukraloz (S), Sukraloz+kuersetin (SK) ve Asesülfam K gruplarında tür zenginliğinin azaldığı görülmüştür. Beta çeşitlilik analizlerinde Sukraloz ve Sukraloz+kuersetin gruplarında anlamlı farklılık oluşmamış; Kontrol grubuna kıyasla Asesülfam K ve Kuersetin gruplarında; Asesülfam K grubuna göre ise Kuersetin ve Asesülfam K+kuersetin gruplarında anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

Yapay tatlandırıcılara maruziyetin ve kuersetin takviyesinin tek başına veya tatlandırıcılarla kombine kullanımının araştırıldığı bu çalışma sonucunda, glisemi düzeylerinde anlamlı değişim olmamakla birlikte, gruplar arasında mikrobiyal çeşitlilik ve kompozisyonunda farklılıklar tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak, daha uzun süreli maruziyetin glukoz metabolizması ve mikrobiyota üzerinde değişiklik oluşturma potansiyeli açısından hayvan çalışmalarının uzun süreli kronik sonuçlarına bakılması; ayrıca ayrıntılı klinik deneylerin yapılarak düşük ve yüksek dozlardaki kullanımlarının sonuçlarının karşılaştırılması bu etkilerin netleşmesini sağlayabilir. Bu amaçla, sukroza alternatif ve güvenli kalorisiz tatlandırıcı önerilerinin ve metabolik sendromlarda rol alabilecek mikrobiyota profilinin belirlenmesini sağlayacak çalışmaların sürdürülmesi hedeflenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Asesülfam K, Bağırsak mikrobiyotası, Glukoz metabolizması, Kuersetin, Sukraloz.

## ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences  
Department of Medical Pharmacology  
Medical Pharmacology  
Master Thesis

### INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP OF ARTIFICIAL SWEETENERS WITH MODULATION OF INTESTINAL MICROBIOTA AND GLYCEMIA LEVELS IN RATS AND THE POTENTIAL EFFECT OF QUERCETIN ON THESE PARAMETERS

Zahide Yıldız

Konya-2024

The human gut microbiota is known to play an important role in various metabolic, physiological and immunological processes. Maintaining microbiota balance in the gut is vital for human health; however, this balance can be disrupted by various external factors, including food additives. The artificial sweeteners sucralose and acesulfame K are safe food additives used as alternatives to sucrose to ensure controlled calorie consumption and reduce the complications of metabolic syndrome and comorbidities. The functional effects of sucralose and acesulfame potassium on gut microbiota and glycemia levels are not fully understood. Quercetin is one of the important polyphenols used to combat intestinal dysbiosis due to its modulatory effects on gut microbiota. In our study, the effects of sucralose and acesulfame potassium on gut microbiota and blood glucose levels and the potential effect of quercetin intake as a dietary source on these results were examined.

Wistar albino rats were exposed to acesulfame potassium or sucralose in drinking water for 42 days, except for the control group and the group given quercetin alone, and some groups were given quercetin by oral gavage. In the study, fasting blood glucose levels were measured at the beginning and 6 times during the experiment and the averages were analyzed and the body weights of all animals were measured 3 times at the beginning, middle and end of the experiment. The microbiota compositions were determined by 16s rRNA sequencing from fecal samples taken at the end of the experiment.

At the end of the study, the change in body weight and fasting blood glucose levels in all groups did not show significant changes compared to the control group. In addition, it was observed that bacteria belonging to the phylum Firmicutes increased in all groups, with the least increase in the Quercetin (TK) group compared to the control group. The lowest number of Operational Taxonomic Unit (OTU) was found in the Acesulfame K (A) group and the highest number of OTU was found in the Quercetin (TK) group. The number of OTU, which decreased in the acesulfame K and sucralose groups, increased with the addition of quercetin to these groups. It was also observed that quercetin increased the alpha diversity in the Acesulfame K+quercetin (AK) group closer to the control group compared to the Acesulfame K group. Alpha diversity analyses showed that species richness decreased in Sucralose (S), Sucralose+quercetin (SK) and Acesulfame K groups. In beta diversity analyses, no significant differences were observed in the Sucralose and Sucralose+quercetin groups; significant differences were observed in the Acesulfame K and Quercetin groups compared to the Control group; and in the Quercetin and Acesulfame K+quercetin groups compared to the Acesulfame K group.

As a result of this study in which exposure to artificial sweeteners and quercetin supplementation alone or in combination with sweeteners were investigated, there was no significant change in glycemia levels, but differences in microbial diversity and composition were detected between the groups. Accordingly, long-term chronic results of animal studies in terms of the potential of longer-term exposure to alter glucose metabolism and microbiota, as well as detailed clinical trials comparing the results of low and high doses may clarify these effects. For this purpose, it should be aimed to continue studies to determine alternative and safe calorie-free sweetener recommendations to sucrose and the microbiota profile that may play a role in metabolic syndromes.

**Keywords:** Acesulfame K, Glucose metabolism, Gut microbiota, Quercetin, Sucralose.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bağırsak mikrobiyotasının çeşitli hastalıkların patojenezi ve tedavisindeki rolü, son yıllarda akademik çalışmaların ilgi odağı olmuştur. Sağlıklı bir hayat için kommensal ve simbiyotik olarak yaşayan mikroorganizmaları yeterince anlamak gerekir. Teknolojik gelişmelerin bağırsak mikrobiyotasını daha anlaşılabilir ve ulaşılabilir hale getirmesi nedeniyle mevcut araştırmalar bu konuya odaklanmaktadır.

İnsan bağırsak mikrobiyotasının çeşitli metabolik, fizyolojik ve immünolojik süreçlerde ve beslenmede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Abou ve ark., 2008). Bağırsakta mikrobiyota dengesinin korunması insan sağlığı için hayati önem taşımaktadır; ancak bu denge, gıda katkı maddeleri de dahil olmak üzere, çeşitli dış etkenler tarafından bozulabilmektedir (Dominguez ve ark., 2019; Yu ve ark., 2021).

Diyetlerde işlenmiş gıdaların çeşitliliği ve miktarının artması, başta yapay gıda katkı maddeleri olmak üzere gıda katkı maddelerine maruz kalma sıklığının ve dozunun artmasına yol açmaktadır (Zhou X ve ark., 2023). Güvenli gıda katkı maddelerine izin verilmesine rağmen, yaygın olarak kullanılan sakkarin, sukraloz, aspartam ve asesülfam potasyum gibi yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki fonksiyonel etkisi tam anlamıyla bilinmemektedir (Bian ve ark., 2017). Düzensiz bağırsak mikrobiyotası olarak bilinen bağırsak disbiyozisi, bağışıklık sistemini bozarak inflamatuvar bağırsak hastalıkları, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi rahatsızlıkları tetiklemektedir (Zhou X ve ark., 2023).

Tatlandırıcılar, şekerin yerini alması için üretilen ve şekerden daha tatlı olup daha az kalori içeren gıda katkı maddeleridir (İşgören ve ark., 2019). Birkaç yıl öncesine kadar, tatlandırıcıların metabolik olarak inert ve belirgin fizyolojik etkileri olmadığı düşünülüyordu; ancak bazılarının bağırsakta çoklu değişikliklere uğrayarak bağırsak mikrobiyotası ile etkileşime girdiği ve böylece bağırsakların farklı bölgelerindeki metabolitleri değiştirdiği görülmüştür (Del Pozo ve ark., 2022). Yaygın olarak kullanılan sakkarin, sukraloz, aspartam ve asesülfam potasyum gibi tatlandırıcılar, son zamanlarda bağırsak mikrobiyotasında antibiyotiklerin neden olduğu gibi değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Yu ve ark., 2021). Yapay tatlandırıcıların bakterilerde oksidatif stresi indükleyebileceği, ayrıca daha yüksek açlık kan şekeri ve glikozillenmiş hemoglobin düzeylerine yol açabileceği bildirilmiştir (Suez ve ark., 2014; Yu ve ark., 2021).

Beslenme alışkanlıkları, yaş, probiyotik ve prebiyotik alımı, antibiyotik kullanımı, metabolik hastalıklar gibi birçok faktör, mikrobiyota çeşitliliğini ve işlevini sürekli olarak

değiştirebilmektedir (Sakkas ve ark., 2020). Diyet ve mikrobiyota etkileşimlerine odaklanan araştırmalar, polifenoller, vitaminler ve yetersiz beslenme gibi birçok etkenin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki potansiyel etkilerini incelemiştir (Sakkas ve ark., 2020; Rosca ve ark., 2020; Wu ve ark., 2020a; Habtemariam, 2020; Million ve ark., 2017).

Polifenoller, bitkilerde doğal olarak bulunan antioksidanlardır. Polifenollerin büyük bir kısmı gastrointestinal sistem boyunca sindirilmeden ilerler, kalın bağırsakta birikir ve burada bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edilir. Böylece aktif ve biyolojik olarak kullanılabilir metabolitlere dönüştürülürler (Wan ve ark., 2021). İlk olarak, metabolitlerine dönüştürülen polifenollerin biyoyararlanımı artmış olur. İkincisi, çoğunlukla patojenik bakterilerin inhibisyonu ve faydalı bakterilerin uyarılması yoluyla bağırsak mikrobiyotasının bileşim modülasyonunu sağlarlar (Ozdal ve ark., 2016). Kuersetin, çeşitli biyolojik özelliklere sahip olan önemli polifenollerden biridir. Araştırmalar, son zamanlarda bağırsak mikrobiyotası üzerindeki modülatör etkilerine bağlı bağırsak disbiyozuyla mücadele için kuersetin uygulamasına odaklanmıştır (Shi ve ark., 2020).

Tatlandırıcılar ve glisemi ilişkisi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, bağırsak mikrobiyal değişiminin glukoz metabolizmasında oynadığı rol haricinde tatlandırıcıların enteroendokrin sistem salgıları (Osinski ve ark., 2022) üzerinden de etkilerinin araştırıldığı görülmüştür. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda tatlandırıcıların inkretin hormon düzeylerine etkileri incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Temizkan, 2012; Örkü, 2020).

Literatürde insan ve hayvan çalışmalarında yapay tatlandırıcılarla bağırsak mikrobiyotasında görülen değişimler konusunda kullanılan tatlandırıcıya, doza ve çalışma süresine bağlı olarak farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Ayrıca tatlandırıcılar ve bağırsak disbiyozu ile diyet, obezite ve bozulmuş glukoz metabolizması arasındaki ilişkiler de son zamanlarda birçok araştırmaya konu olmaktadır (Suez ve ark., 2014; Thomson ve ark., 2019; Bueno-Hernandez ve ark., 2020). Bu çalışmaların sonuçları da yine kullanılan madde, doz, çalışılan tür ve süreye göre değişebilmektedir. Ayrıca, kuersetin takviyesinin tatlandırıcıların mikrobiyota üzerinde oluşturduğu değişim üzerinde potansiyel modülatör etkileri ile ilgili literatürde yeterli çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, yapay tatlandırıcılara maruziyetin ratlarda bağırsak mikrobiyotası ve glisemi düzeyine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, beslenme açısından önemli polifenollerden biri olan kuersetin takviyesinin tek başına veya tatlandırıcılarla kombine

kullanımının mikrobiyota üzerindeki modölatör etkilerinin de incelenmesi ve buna bağı olarak kan şekeri düzeylerindeki değışimlerin saptanması hedeflenmektedir. Sonuçlar litaratüre katkı sağlamanın yanında toplum sağlının korunması ve sürdürülmesi açısından da önem arz etmektedir.

### **Araştırmanın Hipotezleri**

1. Tatlandırıcılar, bağırsak mikrobiyota bileşimini değıştirerek disbiyozise neden olmaktadır.
2. Tatlandırıcılar, olumsuz etkilenmesi beklenen bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla kan şekeri düzeylerine etki etmektedir.
3. Tatlandırıcıların sebep olabileceğı bağırsak mikrobiyotası disbiyozisini, kuersetin takviyesi modüle etmektedir.
4. Kuersetin, bağırsak mikrobiyotası bileşimine etki ederek, kan şekeri düzeylerinin modülasyonunu sağlamaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Bağırsak Mikrobiyotasının Tanımı

“Mikro” ve “biota” kelimeleri Antik Yunan kökenlidir. Bir ekosistemin veya belirli bir bölgenin canlı organizmaları anlamına gelen “biota” ve “mikro” terimlerinin birleşimidir (Berg ve ark., 2020). Mikrobiyota, insan vücudunda yaşayan ve konakçı ile vücut alanını paylaşan çeşitli mikroorganizmaların oluşturduğu bir topluluktur. Trilyonlarca kommensal, simbiyotik ve hatta patojenik mikroorganizma içeren karmaşık bir ekosistemi oluşturur (El-Sayed ve ark., 2021). Mikrobiyota, bağırsaklar, ağız boşluğu, burun delikleri, vajina, meme ve deri olmak üzere vücudun çeşitli anatomik bölgelerinde kolonize olmuştur (Aggarwal ve ark., 2023).

Her insanın mikrobiyotasının bileşimi bebeğin doğum haftası, doğum şekli, beslenme yöntemi, antibiyotik kullanımı gibi dış etkenlere bağlı olduğundan yaşamın erken döneminde şekillenir. Bu kişisel ve sağlıklı mikrobiyota, yetişkinlikte nispeten sabit kalır; ancak vücut kitle indeksi, egzersiz sıklığı, yaşam tarzı ve kültürel beslenme alışkanlıklarına göre bireyler arasında farklılık gösterebilir (Rinninella ve ark. 2019). Vücudumuzun mikrobiyotası vücudumuzdaki toplam hücre sayısının %90'ını oluşturur; geri kalan %10 ise insan hücreleridir (Grice ve Segre, 2012). Bu oran karşılaştırıldığında, mikrobiyotanın sağlığımız ve hastalık durumumuz üzerindeki etkisi anlaşılmaktadır. Metabolik, otoimmünojenik ve nörodejeneratif hastalıkları indükleyebilir veya değiştirebilirler. Ek olarak, konakçı immün yanıtını düzenlerler ve ilaç etkileşimlerini modüle ederler (El-Sayed ve ark., 2021; Grice ve Segre, 2012).

İnsan bağırsak mikrobiyotası, bakteri, virüs, protozoon ve mantarlar gibi farklı mikrobiyal topluluklarından oluşan ve insan sağlığının birçok alanında önemli bir rol oynayan, konakçının ve içinde yaşayan mikroorganizmaların, bağışıklık ve metabolik işlevleri gerçekleştiren süper organizma olarak tanımlanabilir (Sakkas ve ark., 2020; Rinninella ve ark., 2019). Bağırsak mikrobiyotasının bir dizi fizyolojik işlev yoluyla konakçıya fayda sağlaması için mikroorganizma bileşiminin sağlıklı aralıklarda ve oranlarda olması gerekmektedir. Çeşitli etkenlerle mikrobiyotadaki mikroorganizma içeriği, miktarı ve oranının bozulması durumunda konakçı için patojen hale gelerek metabolik sendromlara altyapı oluşturmaktadır. Değişen bu mikrobiyal bileşim ise bağırsak disbiyozu olarak adlandırılmaktadır (Thursby ve ark., 2017).

### 2.1.1. Bağırsak mikrobiyotasının içeriği ve genel yapısı

İnsanda bağırsak mikrobiyotası, konağın tüm yaşam süresi boyunca konak sağlığını etkileyerek ve çoklu etkileşimlerle metabolizma, enfeksiyon ve inflamasyona karşı direnç oluşturarak kanserden korunmada önemli bir rol oynar (Hills ve ark., 2019).

Mikroorganizmalar, doğumdan hemen sonra yenidoğan bağırsağını kolonize eder. Bu erken bağırsak mikrobiyotasının oluşumu ve bileşiminin anne sütünde bulunan spesifik bileşikler tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir (Milani ve ark., 2017). Bununla birlikte, kolonizasyon sürecinin doğumla başladığı düşünülse de Aagaard ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada sağlıklı term gebeler arasında 320 denekten steril koşullar altında toplanan plasenta numunelerinde Firmicutes, Tenericutes, Proteobakteri, Bacteroidetes ve Fusobacteria filumlarında patojenik olmayan plasental bakteri varlığına ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, mikrobiyal maruziyetin doğumdan önce başlayabileceğini ileri sürmüştür (Aagaard ve ark., 2014). Yaşamın yaklaşık olarak ilk üç yılının sonunda, bağırsak mikrobiyotası yetişkin benzeri stabil bir ekosistem haline gelir. Mikrobiyota içeriğinin %60 ila %70'i bir kez oluştuktan sonra yaşam boyunca nispeten sabit kalır; ancak %30 ila %40'ı diyetdeki değişimler, fiziksel aktivite, yaşam tarzı, bakteriyel enfeksiyon, antibiyotik veya cerrahi tedavi gibi diğer faktörlerle değişebilir (Vaiserman ve ark., 2015). Sebze açısından zengin veya hayvansal protein ağırlıklı diyetler ile mikrobiyota bileşimi arasındaki korelasyonlar araştırılmasına rağmen diyet bileşenlerinin net etkisi hala belirsizliğini korumaktadır (De Angelis ve ark., 2020). Ayrıca bağırsak mikrobiyotasının bileşiminde konağın genetik yapısının da bir rolü vardır: mutasyonlar ve doğuştan var olan hiperimmünite-immün yetmezlik, bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu etkileyebilir (Sommer ve Bäckhed, 2013). İnsan bağırsak mikrobiyotası beş ana bakteri filumunu içerir: Firmicutes (Bacillota) ve Bacteroidetes (Bacteroidota) filumu mikrobiyotada baskın bulunurken, Actinobakteri (Actinomycetota), Proteobakteri (Pseudomonadota) ve Verrucomicrobia filumu daha az oranlarda bulunur. İnsan bağırsak mikrobiyotasının genel yapısı Tablo 2.1.'de verilmiştir (Rinninella ve ark., 2019). Sağlıklı yetişkinlerdeki filum kompozisyonu benzer olsa da genetik-çevresel faktörler nedeniyle cins ve tür seviyelerinde bireyler arasında önemli farklılıklar meydana gelebilir (Piggott ve Tuddenham, 2020). Beş ana bakteri filumu haricinde gastrointestinal sistemde tespit edilen Fusobacterium bir başka bakteri şubesidir (Milani ve ark., 2017). Fusobacterium, paralel kenarları ve yuvarlak uçları olan, spor oluşturmeyen, gram negatif anaerobik basillerdir (Finegold, 1996). Fusobacterium, kolorektal kanser ve ülseratif kolit ile ilişkilendirilmiştir (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014).

Sağlıklı insanların dışkı mikrobiyotasında baskın olan bakteriyel türleri araştırmak

amaçlı yapılan bir çalışmada, 17 insanın dışkıında mikrobiyota çeşitliliğine bakılmış ve Firmicutes (%79.4), Bacteroidetes (%16.9), Actinobakteri (%2.5), Proteobakteri (%1) ve Verrucomicrobia (%0,1) oranlarında sonuçlar elde edilmiştir (Tap ve ark., 2009).

**Tablo 2. 1.** İnsan Bağırsak Mikrobiyotasının Genel Yapısı (Rinninella ve ark., 2019).

<b>Bağırsak Mikrobiyotası</b>				
<b>Firmicutes</b>	<b>Actinobakteri</b>	<b>Bacteroidetes</b>	<b>Proteobakteri</b>	<b>Verrucomicrobia</b>
Clostridium	Bifidobacterium longum	Bacteroides	Gama proteobakterileri	Akkermansia muciniphila
Enterococcus	Bifidobacterium bifidum	Prevotella	Delta proteobakterileri	
Lactobacillus			Epsilon proteobakterileri	
Ruminococcus				
Staphylococcus				

### ***Firmicutes***

Firmicutes, hem zorunlu hem de fakültatif anaerobik bakterilerden oluşur. Genellikle gram-pozitif bakterileri içerir ve olumsuz koşullar altında hayatta kalmak için endospor oluştururlar (Kim ve ark., 2017). Firmicutes, sağlıklı yetişkinlerde gastrointestinal mikrobiyotanın yarısından fazlasını oluşturan en çeşitli bakteri grubudur (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). Clostridium, Enterococcus, Lactobacillus, Ruminococcus, Staphylococcus gibi bakteriler bu filumun içinde yer alır. (Tablo 2.2.) (Rinninella ve ark., 2019). Clostridium sınıfında yer alan Clostridium XIV ve IV kümeleri, bağırsak epitel sağlığını destekleyen ve konakçı immün homeostazına yardımcı olan yararlı bakteri kümeleridir (Lopetuso ve ark. 2013). Bununla birlikte, Clostridium sınıfının diğer kümelerinde yer alan *C. perfringens*, *C. tetani* ve *C. difficile* hastalığa neden olan önemli patojenlerdir (Kim ve ark. 2017).

Firmicutesin diğer bir farklı grubu, gastrointestinal sistemin üst kısmında baskın olan ve Lactobacillus, Enterococcus ve Streptococcus cinslerini içeren Bacilli sınıfıdır (Kim ve ark. 2017). Enterococcus ve Streptococcus normalde düşük yoğunlukta bulunur; ancak antibiyotik tedavisinde olduğu gibi bağırsak disbiyozu sırasında yoğunluğu artar ve patojenik hale gelirler (Taur ve Pamer, 2013). Laktobasiller, Bacilli sınıfının diğer ilgi gören bir üyesidir ve bağırsak disbiyozu durumunda bolluğunun azaldığı görülmüştür (Ott ve ark., 2004). Laktobasiller sınıfında yer alan Lactobacillus plantarum, insan gastrointestinal sisteminde ve günlük yaşamda kullandığımız turşu, salamura gibi besinlerde bulunur. Ayrıca Lactobacillus plantarum bir probiyotik olarak tanımlanmış ve özellikle de mide-bağırsak sorunları olanlar için çok popüler bir besin takviyesi haline gelmiştir (Vamanu ve ark. 2008).

**Tablo 2. 2.** Firmicutes filumuna ait bakteri çeşitleri (Rinninella ve ark., 2019)

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins
<b>Firmicutes</b>	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Faecalibacterium
				Clostridium
			Lachnospiraceae	Roseburia
			Ruminococcaceae	Ruminococcus
	Negativicutes	Veillonellales	Veillonellaceae	Dialister
	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus
Enterococcaceae			Enterococcus	
		Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus
Cins	Tür			
Faecalibacterium	Faecalibacterium prausnitzii			
Clostridium	Clostridium spp.			
Roseburia	Roseburia intestinalis			
Ruminococcus	Ruminococcus faecis			
Dialister	Dialister invisus			
Lactobacillus	Lactobacillus reuteri			
Enterococcus	Enterococcus faecium			
Staphylococcus	Staphylococcus leei			

### ***Bacteroidetes***

Bacteroidetes cinsi, gastrointestinal sistemin farklı bölgelerinde bulunan, hem anaerobik hem de aerobik, spor oluşturmeyen, gram negatif ve çubuk şeklindeki bakterilerden oluşur (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). Bacteroidetes cinsi bakteriler, bağırsaktaki en baskın gruplardan biridir (Tap ve ark., 2009). Bacteroidetes filumuna ait bakteri çeşitleri Tablo 2.3.'te yer almaktadır (Rinninella ve ark., 2019). Bacteroidetes üyeleri arasında Bacteroides ve Prevotella türleri hakimdir. Prevotella, meyve ve sebzeler açısından zengin bir diyet tüketen kişilerin mikrobiyotasında baskınken, Bacteroides yoğunluğu ise genellikle yağ ve protein açısından zengin diyetle beslenen kişilerde artmıştır (De Filippis ve ark., 2019). Bu bakteriler, sindirilemeyen diyet bileşenlerini sindirmeye, dolaylı yoldan bağırsak epitel hücre büyümesinin düzenlenmesine ve bağışıklık sisteminin modülasyonu gibi metabolik fonksiyonlara katkıda bulunur (Kim ve ark., 2017). Bacteroidetes cinsi, önemli metabolik fonksiyonlara katkıda bulunmasına rağmen bu cins içindeki bazı üyeler çoğalırsa patojen olabilir. Bacteroidetes üyesi olan Enterotoksijenik B. Fragilis'in (ETBF) inflamatuvar bağırsak hastalığı alevlenmeleri ve kolorektal kanser ile bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Sears,

2009). Dubourg ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Mycobacterium tuberculosis ve Streptococcus pneumoniae tedavisi gören hastanın bağırsak mikrobiyota analizinde Bacteroidetes saptanmamış, disbiyozis görülmüş ve hastanın kısa bir sürede öldüğü kaydedilmiştir. Bu sonuç, hastaların geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi edilirken disbiyozis açısından dikkatli olunması gerektiğini düşündürmektedir (Dubourg ve ark., 2013). Bacteroidetes'in miktarının azalması obezite, hassas bağırsak sendromu ile ilişkilendirilirken, diyabetik kişilerde ise oranlarının yüksek olduğu görülmüştür (Larsen ve ark., 2010; Ley, 2010; Rajilić-Stojanović ve ark., 2011).

**Tablo 2. 3.** Bacteroidetes filumuna ait bakteri çeşitleri (Rinninella ve ark., 2019)

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	
	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	Bacteroides fragilis
					Bacteroides vulgatus
					Bacteroides uniformis
			Tannerellaceae	Tannerella	
				Parabacteroides	Parabacteroides distasonis
			Rikenellaceae	Alistipes	Alistipes finegoldii
			Prevotellaceae	Prevotella	Prevotella spp.

### **Actinobakteri**

Yetişkin bağırsak mikrobiyotasında önemli bir yeri olan Actinobacteria filumu, aerobik, anaerobik ve gram-pozitif bakterilerden oluşur. Tablo 2.4'te Actinobacteria filumuna ait bakteriler gösterilmiştir (Rinninella ve ark., 2019). Bu filum içerisinde yer alan Bifidobacterium, bağırsak mikrobiyotasında yaşayan başlıca bakteri türlerinden biridir (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). Bifidobakteri türleri, vajina ve ağız boşluğundan izole edilse de büyük çoğunluğu gastrointestinal sistem içerisinde bulunmaktadır ve bunların varlığı diyabetin önlenmesi, laktoz intoleransının iyileştirilmesi ve immünomodülasyonun sağlanması gibi etkilerle ilişkilendirilmiştir (Schell ve ark., 2002). Gıdaların içeriğindeki Bifidobakterilerin, laktik asit üretmeleri ve çok az patojenik potansiyele sahip olmaları gibi olumlu etkileri vardır (Picard ve ark., 2005). Saikali ve ark. yaptığı bir çalışmada, bifidobakterilerin karsinojen üretimini ve aktivitesini azalttığı görülmüştür (Saikali ve ark., 2004). Diyare ve konstipasyon durumlarında probiyotik olarak Bifidobacterium kullanımına önem verilmiş ve Bifidobacterium Animalis'in kolon geçiş sürelerini azalttığı tespit edilmiştir (Bouvier ve ark., 2001). Ayrıca, Bifidobacterium içeren yoğurtların antibiyotik ile birlikte verilmesi, Clostridia spor sayısında bir düşüşe sebep olmuş ve Bifidobacterium'un bağırsak mikroflorasında antibiyotikle ilişkili değişiklikleri azaltabileceğini düşündürmüştür (Cremonini ve ark., 2002).

**Tablo 2. 4.** Actinobacteria filumuna ait bakteri çeşitleri (Rinninella ve ark., 2019)

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	Bifidobacterium longum Bifidobacterium bifidum
	Coriobacteria	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Atopobium	

### **Proteobakteri**

Proteobakteri filumu, gram-negatif bakterileri içeren fakültatif anaeroblardır (Kim ve ark., 2017). Proteobakteri filumu, Alfa, Beta, Gamma, Delta ve Epsilon olmak üzere beş farklı üyeden oluşur ve Gamma Proteobakteri içindeki Enterobacteriaceae gastrointestinal mikrobiyotada en yaygın bulunan bakteri üyesidir (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). Proteobacteria filumuna ait bakteriler Tablo 2.5.'te belirtilmiştir (Rinninella ve ark., 2019). Proteobakteri filumunun üyeleri, sağlıklı insanların bağırsaklarında az miktarda bulunur. Proteobakteri popülasyonunun kontrolsüz artması disbiyozis ve hastalık riski ile ilişkilendirilmiştir (Shin ve ark., 2015). Proteobakteri filumu içerisinde yer alan *Escherichia coli*, sağlıklı bağırsak mikrobiyotasında az oranlarda kolonize olmasına rağmen antibiyotik tedavisini takiben artmasıyla birlikte disbiyozis meydana getirir ve antibiyotiğe dirençli suşların oluşmasına sebep olur (Taur ve Pamer, 2013). Proteobakteri filumu içerisinde yer alan *Helicobacter hepaticus* ise mikrobiyotadaki dengesinin değişmesi inflamatuvar bağırsak hastalığı ve kolon kanseri riski oluşturmaktadır (Chow ve Mazmanian, 2010).

**Tablo 2. 5.** Proteobacteria filumuna ait bakteri çeşitleri (Rinninella ve ark., 2019)

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
				<i>Shigella</i>	<i>Shigella flexneri</i>
	Delta proteobacteria	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Desulfovibrio intestinalis</i>
			<i>Bilophila</i>	<i>Bilophila wadsworthia</i>	
Epsilon proteobacteria	Campylobacterales	Helicobacteraceae	<i>Helicobacter</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	

### **Verrucomicrobia**

Verrucomicrobia filumunda yer alan bakteriler, gram negatif ve anaerobik özellik göstermektedir. *Akkermansia muciniphila*, bu filuma ait bağırsak mukozası ve epiteli üzerinde en etkili olan üyedir (Derrien ve ark., 2004; Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). *Akkermansia muciniphila*'nın obez ve Tip 2 diyabetik farelerde mekanizması tam olarak anlaşılmasa da mikrobiyotada miktarının azaldığı görülmüştür (Everard ve ark., 2013). Ayrıca *Akkermansia*

muciniphilanın azalması akut apandisit, ülseratif kolit gibi patolojilerle ilişkilendirilmiştir (Rajilić-Stojanović ve Vos, 2014). Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada otizmlili çocuklarda mukolitik bakteri olan Akkermansia muciniphilanın daha düşük yoğunlukta bulunduğu tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2011).

### **2.1.2. Bağırsak mikrobiyotasının insan sağlığı için önemi**

Sağlıklı birey ve hastalarda mikrobiyotanın farklı olduğunu bildiren sonuçların ortaya çıkmasıyla birlikte insan bağırsak mikrobiyotası üzerine olan çalışmalar artmaya başlamıştır (Ghosh ve ark., 2022).

Mikroorganizmalar genel olarak inorganik-organik molekülleri besin olarak sindirmemiz için katabolize eder. Ayrıca konakçı bağışıklığını düzenleyip patojenlere karşı savunmada rol aldığı ve nöronal gelişim dahil olmak üzere konağın fizyolojisi için temel işlevleri sağladığı kabul edilir (Kawamoto ve ark., 2023; Ghosh ve ark., 2022).

İnsan sağlığını etkileyen mikrobiyota kaynaklı birincil metabolitlerin en iyi bilinen örnekleri kısa zincirli yağ asitleridir (SCFA). Asetat, propiyonat ve bütirat gibi SCFA'lar, diyet lifinin bağırsak mikrobiyotası tarafından fermantasyonu yoluyla üretilir ve daha sonra bağırsak epitel hücreleri tarafından emilir (De Angelis ve ark., 2020; Puertollano ve ark., 2014). Bunlar arasında asetat, propiyonat ve bütirat insan vücudunda en bol bulunan SCFA'lardır ve postbiyotik moleküller olarak hareket eder. Bacteroides, propiyonat ve asetat üretimi ile ilişkilendirilirken, bütirat esas olarak Firmicutes şubesi tarafından üretilmektedir. Bütirat, bağırsak mukozasına enerji kaynağı sağlarken, propiyonatın karaciğer glukoneogenezine katkıda bulunduğu görülmüştür (Portincasa ve ark., 2022). Özellikle propiyonat ve bütiratın obezite, diyabet ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi metabolik ve inflamatuvar bozukluklarda olumlu rol oynadığı bilinmektedir (Puertollano ve ark., 2014). İnsan mikrobiyotası, ilaçların etkinliğini ve toksisitesini modüle etmede önemli bir role sahiptir. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişkenlik, ilaçların metabolizmasında ve yan etkilerinde farklılıklara yol açmaktadır (Wallace ve ark., 2010).

İnsan metabolizması bazı vitaminlerin biyosentezini yapamadığı için dışardan alınmaları gerekir. Vitaminler çeşitli gıdalarda bulunmasına rağmen, yetersiz ve kötü beslenme nedeniyle seviyelerinde eksiklikler oluşmaktadır. İnsanlarda bağırsak mikrobiyotası bakterilerinin biyotin, kobalamin, folat, nikotinik asit, pantotenik asit, piridoksin, riboflavin ve tiamin gibi suda çözünen B vitaminlerinin çoğunu sentezleyebildiği gösterilmiştir. Temel vitaminlerin sentezine mikrobiyotanın aracılık etmesi, insan sağlığını iyileştirmek ve sürdürmek için bakteriyel varlığın önemli olduğunu göstermektedir (LeBlanc ve ark., 2013).

Mikrobiyotanın temel işlevlerinden bir tanesi, çeşitli mekanizmalar yoluyla konakçı bağışıklık tepkilerini modüle etmektir. Bağırsak mikrobiyotası, konakçının bağırsak epitelinin gelişmesi ve olgunlaşması için gereklidir. Bu mikrobiyota, mukus tabakasının özelliklerini etkiler, lenfosit popülasyonunun farklılaşmasını modüle eder ve immünoglobulin A (IgA) üretimini dengeler (Sommer ve Bäckhed, 2013). IgA, bağırsak dahil olmak üzere mukozal dokularda üretilen önemli bir immünoglobulin sınıfıdır ve insanlarda en bol bulunan izotiptir. IgA, yenidoğan bebeklere doğumdan kısa bir süre sonra anne sütü yoluyla aktarılır ve bebeği enfeksiyona karşı korumak, erken dönem mikrobiyotasını şekillendirmek ve bağışıklık tepkilerini düzenlemek için önemlidir (Huus ve ark., 2021). Bağırsak mikrobiyotasındaki bakterilerin IgA üreten hücrelerin gelişimini teşvik ettiği kesin mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olsa da üretilmesi için önemli olduğu bilinmektedir. Bağırsak lümeninde IgA, yüksek konsantrasyonlarda polimerik IgA olarak üretilir. Polimerik IgA, bağırsak epitel hücreleri üzerinde eksprese edilen ve bağırsak lümenine IgA (SIgA) olarak salgılanan polimerik immünoglobulin reseptörü (pIgR) yoluyla taşınır. SIgA, antijenleri kaplayarak onların konakçı epiteline bağlanmalarını ve lamina propriaya penetrasyonlarını engeller. Böylelikle bağırsak bariyer fonksiyonunu destekler ve konakçı-kommensal birlikteliğin korunmasına yardımcı olur (Fagarasan ve ark., 2010). Bilimsel çalışmalar bağırsaktaki besin kaynağı için rekabet ederek patojen bakteri çoğalmasını engelleyen kommensal bakterilerin konakçıyı enfeksiyonlardan koruyacağını göstermektedir (Kamada ve ark., 2013).

Bağırsak mukus tabakası, epitel hücre yüzeyini kaplar ve fiziksel özelliklerinden dolayı gastrointestinal içeriği taşımaya kolaylaştıran kayganlaştırıcı ve patojen bakteri kolonizasyonuna karşı koruyucu bir tabaka olarak işlev görür. Gastrointestinal sistemi kaplayan mukus tabakası, glikoproteinler, antimikrobiyal peptitler, immünoglobulinler ve diğer birçok bağırsak proteininin yanı sıra lipitler ve elektrolitler açısından zengin, biyokimyasal bir ortamdır (Johansson ve ark., 2011). Mikrobiyota, mukozada villus, kript derinliği, kök hücre proliferasyonu, damar yoğunluğu ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokuların olgunlaşması dahil olmak üzere bağırsak morfolojisinde önemli değişiklikleri destekler. Ayrıca mukus tabakası patojen ve kommensal bakterilere özel bağlanma bölgeleri içerdiğinden bakteriler bu bölgeler için rekabet edebilir (Johansson ve ark., 2011; Sommer ve Bäckhed, 2013; Juge, 2012). Görülen bu etkiler, mukus tabakası ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki karşılıklı etkileşimin bağırsaktaki homeostaz için önemli olduğunu göstermektedir. Araştırmalarda mikropsuz ve geleneksel yöntemlerle yetiştirilen hayvanların mukozası karşılaştırılmış, mikropsuz hayvanlarda daha az goblet hücresi ve daha ince bir mukus tabakası olduğu sonucuna

ulaşlmıştır. Bu durum, bağırsak mikrobiyotasının mukozanın fizyolojik etkilerini dolaylı olarak değiştirebileceğini düşündürmüştür (Sharma ve ark., 1995).

Bağırsak mikrobiyotasının beyin ve davranış üzerindeki etkileri incelenmiştir. Özellikle bağırsaktaki mikrobiyotanın öğrenme, hafıza ve karar verme süreçleri gibi bilişsel işlevler de dahil olmak üzere birçok fizyolojik parametreyi büyük ölçüde etkileyebileceği ortaya çıkmıştır (Margolis ve ark., 2021). Bağırsak mikrobiyotası ve merkezi sinir sistemi arasındaki çift yönlü iletişime bağırsak-beyin eksenini çeşitli doğrudan ve dolaylı yollarla aracılık eder. İletişim yolları, otonom sinir sistemi (enterik sinir sistemi ve vagus siniri), nöroendokrin sistemi, hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenini, bağışıklık sistemini ve metabolik süreçleri içerir (Socafa ve ark., 2021). Bağırsak mikrobiyotası, nörotransmitterleri ( $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA), noradrenalin, dopamin ve serotonin), nöroaktif bileşikler, mikrobiyal metabolitleri ve aminoasitleri (kısa zincirli yağ asitleri ve triptofan) sentezleyebilir. Bu metabolitler, konakçı bağışıklık sistemi ile etkileşime girerek ve metabolizmayı etkileyerek enterik sinir sisteminin yerel nöronal hücreleri yoluyla ve doğrudan beyne sinyal gönderen vagus sinirinin afferent yolları aracılığıyla merkezi sinir sistemini uyarır ve karşılıklı (beyin-bağırsak) etkileşim gerçekleşir. Ayrıca bağırsak mikrobiyotası, enterik sinir sistemi nöronlarının terminal uçlarını içeren lamina propriaya ve portal dolaşıma geçişini kontrol eden bağırsak bariyer bütünlüğünü de etkileyebilir. Anksiyete, otizm spektrum bozukluğu, stres ve depresyon gibi bazı nöropsikiyatrik durumlarda bağırsak bariyeri bütünlüğü bozulabilir. Merkezi sinir sistemi, strese karşı regüle edilmiş hormonal bir tepki sergilediğinde, hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenini tepkisi aktive edilir, adrenokortikotropik hormonun salınımını tetikler ve sentezini başlatır. Adrenokortikotropik hormon bağırsak bariyer bütünlüğünü etkileyen nöroimmün sinyal yanıtlarını düzenleyerek mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebilir (Browning ve ark. 2017; Morais ve ark., 2021).

Mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenine odaklanan araştırmalarda, Bifidobacterium, Lactobacillus, Roseburia ve Faecalibacterium gibi cinslerin daha düşük kaygı ve depresyon seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunurken; Bacteroides, Escherichia, Shigella ve Streptococcus türlerinin daha yüksek stres seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Eicher ve ark., 2022; Collins ve ark., 2012).

Antibiyotik tedavisi, kommensal mikrobiyotanın çoğunu yok ederek bağırsak mikrobiyotasında önemli bir disbiyoz oluşturabilir ve patojenlerin gelişimi için alan sağlar (Duan ve ark., 2022). Özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler kullanarak bakterileri tükettikten sonra bağırsak mikrobiyotasının merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisi incelenmiş ve antibiyotiğe bağlı disbiyozun kemirgenlerde anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara

neden olduğunu doğrulanmıştır (Hoban ve ark., 2016). Lurie ve arkadaşlarının yaptığı klinik araştırmada penisilin kullanan hastaların ruhsal durumları depresyon ve anksiyete riskinin artması ile ilişkilendirilmiştir. Tekrarlayan antibiyotik maruziyetinin ise psikoz ile bir ilişkisi bulunamamıştır (Lurie ve ark., 2015).

Neufeld ve arkadaşlarının yaptığı bağırsak mikrobiyotasının yokluğuyla ilişkili davranışsal bir çalışmada, bağırsak mikrobiyotası olmayan hayvanların anksiyolitik olarak yorumlanabilecek bazal davranışlar sergilediği ve beyindeki nörokimyasal değişikliklerin buna eşlik ettiği sonucuna varılmıştır (Neufeld ve ark., 2011).

Keshavarzian ve arkadaşlarının Parkinson hastalığındaki mikrobiyota bileşimini ortaya koymak için yaptığı bir çalışmada, antiinflamatuvar bütirat üreten bakteriler sağlıklı bireylerde Parkinson hastalarına göre daha fazla bulunmuştur. Ayrıca proinflamatuvar özellikte Proteobakterilerin de Parkinson hastalığı olanların bağırsak mukozasında önemli ölçüde fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Keshavarzian ve ark. 2015).

Otizm spektrum bozukluğu ile mikrobiyota arasındaki ilişkiyi anlamak için yapılan bir araştırmada, otizm spektrum bozukluğu olan kişilerin sağlıklı bireylerden daha düşük bir mikroorganizma çeşitliliğine sahip olduğu ve bu sonucun otistik semptomların varlığıyla ilişkili olduğu; ancak diyet içeriği ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür (Kang ve ark., 2013).

Bağırsak mikrobiyotasının insan fizyolojisi ve sağlığı üzerindeki etkilerini özetlersek; temel vitaminleri (özellikle B grubu) üretmesi, kısa zincirli yağ asitlerini oluşturması, ayrıca bağırsak mukozal bariyerinin düzenlenmesi ve antijenlere karşı bağışıklık sistemi tepkilerinin olgunlaşması gibi önemli birçok fizyolojik süreçte yer almasıdır.

Mikrobiyota araştırmalarında bağırsak mikrobiyotasının sadece bağırsağı etkilemediği, beslenme, metabolizma, kognitif fonksiyonlar ve bağışıklık dahil olmak üzere çoklu konakçı fonksiyonlarını aktif olarak etkilediği sonuçlarına ulaşılmıştır. Elde edilen bulgular insanlar için tanısal, profilaktik ve terapötik yaklaşımlara dönüştürülebilmesi açısından önemlidir.

### **2.1.3. Bağırsak mikrobiyotası ve glukoz homeostazı ilişkisi**

Bağırsak mikrobiyotasının metabolik hastalık gelişiminde çift yönlü olarak rolü bulunmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının modülasyonunun metabolik hastalıkları önlemek için önemli bir seçenek olduğu vurgulanmaktadır (Zhou ve ark., 2022; Le Chatelier ve ark., 2013). Günümüzde bu konu ile yapılan çalışmalar göz önüne alındığında, "Bütün hastalıklar bağırsakta başlar" ünlü sözünü anılan Hipokrat'ın, bağırsak mikrobiyotası ile hastalık oluşumunun ilişkili olduğu konusunda çok ileri görüşlü olduğunu söyleyebiliriz (Lyon, 2018).

Bağırsak bariyeri, bağırsakta yaşayan bakteri ve patojenlerin vücuda girmesini önleyip düzenlemede görevlidir (Howard ve ark., 2022). Bağırsak mikrobiyotasının çeşitli nedenlerle modifiye edilmesi, bağırsak geçirgenliğinin ve mikrobiyal antijenlere duyarlılığın artmasına yol açar, bu da metabolik endotoksemi ve insülin direncinin ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilen mekanizmalardan biridir (Gomes ve ark., 2014). Bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozis, lipopolisakkarit başta olmak üzere bakteriyel endotoksinlerin bağırsak bariyerinden geçişinin artmasına neden olur ve düşük seviyede de olsa metabolik endotoksemi oluşturur (Howard ve ark., 2022). Metabolik endotoksemi, insülin direnci, hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile ilişkili sistemik inflamasyona yol açar. Yapılan araştırmalarda obezite, diyabet ve insülin direnci olan bireylerin sağlıklı bireylere göre artmış oranda bir plazma lipopolisakkarit seviyesi olduğu görülmüş ve bu sonuç bozulmuş bağırsak bariyer geçirgenliği ile ilişkilendirilmiştir (Cani ve ark., 2007; Moreno-Navarrete ve ark., 2010). Genel olarak Tip 2 DM yüksek seviyelerde proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve inflamatuvar proteinler ile ilişkilidir. Bazı bağırsak bakterileri düşük dereceli inflamasyonu teşvik ederken, bazıları ise antiinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri uyarır (Gurung ve ark., 2020). Örneğin *Roseburia intestinalis*, *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila* ve *Lactobacillus plantarum* tarafından IL-10 uyarılmaktadır (Plovier ve ark., 2017; Shen ve ark., 2018; Chang ve ark., 2017; Li ve ark., 2016). IL-10, iskelet kasında yaşlanmayla ilişkili inflamasyonu ve insülin direncini önleyerek glukoz metabolizmasında olumlu rol oynar (Dagdeviren ve ark., 2017). Çeşitli *Lactobacillus* türleri (*L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. casei*) IL-1 $\beta$ , IL-8, CD36 ve C-reaktif proteini baskılayarak endotoksemiye kontrol altında tutmaktadır. *Fusobacterium nucleatum* ve *Ruminococcus gnavus* gibi bakterilerin ise inflamatuvar sitokinleri (IL21, IL22) arttırdığı görülmüştür (Yang ve ark., 2017; Hall ve ark., 2017).

Bakteri metabolizması yoluyla üretilen birçok metabolit konakçı fizyolojisini etkileyebilir. İnsan sağlığını etkileyen mikrobiyota kaynaklı birincil metabolitlerin en iyi bilinen örnekleri kısa zincirli yağ asitleridir (SCFA). Asetat, propiyonat ve bütirat gibi SCFA'lar, diyet lifinin bağırsak mikrobiyotası tarafından fermantasyonu yoluyla üretilir ve daha sonra bağırsak epitel hücreleri tarafından emilir (Puertollano ve ark., 2014). SCFA'ların glisemi etkilerine kısmen G-proteine bağlı reseptörler olan GPR41 ve GPR43 aracılık eder. GPR43 reseptörü, GLP1 sekresyonu sağlar ve böylece SCFA'ların inkretin sekresyonu yoluyla insülin duyarlılığının düzenlenmesine katkıda bulunmuş olur (Federici, 2019). Yapılan çalışmalarda bakteriyel çeşitliliği genellemek zor olsa da Tip 2 DM tanısı alan kişilerin bağırsak mikrobiyotası *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium* ve *Roseburia* türlerinde

azalma, *Clostridium bolteae* ve *Desulfovibrio* gibi fırsatçı patojenlerde ise artış ile karakterize edilmiştir (Xu ve ark., 2023). Glukoz homeostazısının bozulması, birçok metabolik hastalıkları da (glukoz intoleransı, Tip 2 DM, insülin direnci, kardiyovasküler hastalık riski) beraberinde getirmektedir (Eckel ve ark., 2005). Bu metabolik hastalıkların kaynağının belirlenip tanı, tedavi ve koruyucu önlemlerde yol göstermesi için yapılan klinik araştırma ve hayvan çalışmalarının incelenmesi son derece önemlidir.

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada düşük açlık glukoz seviyesi ile gelişmiş glukoz toleransı gösteren transgenik farelerle, transgenik olmayan farelerin mikrobiyota bileşimi incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Fare dışkılarında 16S rDNA tekniği ile mikrobiyota analizi yapılmıştır. Spesifik olarak, transgenik farelerde *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Parabacteroides* miktarının arttığı, *Firmicutes* miktarının ise azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuç, bağırsak mikrobiyotasının bileşiminin glukoz metabolizmasının kontrolünde doğrudan yer alabileceğini göstermektedir (Chen ve Liu, 2021).

De Filippo ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, Afrika ve Avrupa'da yaşayan çocukların bağırsak mikrobiyotasının bileşimi karşılaştırılmıştır. Özellikle Afrikalı çocuklarda *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* (*Prevotella* ve *Xylanibacter*) yoğunluğu fazlayken, Avrupalı çocuklarda ise daha yoğun *Firmicutes* ve *Proteobacteria* bulunmuştur. Bu sonucun Afrikalı çocukların baklagiller, sebzeler dahil olmak üzere bitki bazlı beslenmesine, Avrupalı çocukların ise yağ ve protein açısından zengin hayvan bazlı beslenmesine yanıt olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür. Ayrıca Afrikalı çocuklarda önemli ölçüde daha fazla SCFA bulunmuştur. Avrupalı çocuklarda *Firmiutes/Bacteriodetes* oranındaki yüksek kalorili diyetlerden kaynaklanan artışın gelecekte obeziteye yatkın hale getirebileceği düşünülmektedir (De Filippo ve ark., 2010).

Wu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sağlıklı, prediyabet ve tip 2 diyabeti olan bireylerin mikrobiyota bileşimi incelenmiştir. Prediyabet ve tip 2 diyabet kişilerin bağırsak mikrobiyotasında bütirat metabolizmasında yer alan bakterilerin (*Faecalibacterium*, *Clostridium*, *Alistipes*) azaldığı gözlemlenmiştir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bu değişiklikler prediyabetli bireylerde de görülmüştür; ancak tip 2 diyabet kişilerde daha belirginleşmesi insülin direnci durumuyla güçlü bir şekilde bağlantılı olduğunu göstermektedir. Çalışmada bağırsak mikrobiyotasının glisemik duruma göre değişebileceği bulunmuştur (Wu ve ark., 2020b).

Karlsson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya, Tip 2 DM tanısı alan, bozulmuş glukoz toleransı ve normal glukoz toleransı olan kişiler dahil edilmiştir. Dışkı mikrobiyotasının bileşimi incelenerek Tip 2 DM grubunda normal glukoz toleransı olan kişilere göre *Lactobacillus* türünün miktarında artış ve *Clostridium* türünün miktarında azalma gözlenmiştir. *Lactobacillus* türleri ile kan glukoz seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (Karlsson ve ark., 2013).

Haro ve arkadaşları obez bireylerde bir yıl boyunca akdeniz diyeti veya yüksek kompleks karbonhidrat diyeti tüketiminden sonra mikrobiyotadaki değişiklikleri incelemiştir. Yüksek kompleks karbonhidrat diyetinin *Prevotella*'yı artırdığı ve *Roseburia* cinsini azalttığı, akdeniz diyetinin ise *Prevotella*'yı azaltırken *Roseburia* ve *Oscillospira* cinslerini artırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bir yıllık diyet müdahalesinden sonra obez kişilerin açlık kan şekeri ve HbA1c değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmemiştir (Haro ve ark., 2016).

Zhang ve arkadaşları, bağırsak mikrobiyotasının Tip 2 DM gelişimi ile ilişkisini araştırmak için yaptıkları çalışmaya sağlıklı bireyleri, bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 DM tanısı olan kişileri dahil etmiştir. Sağlıklı bireylerde bütirat üreten bakterilerin (*Akkermansia muciniphila* ve *Faecalibacterium prausnitzii*) diğer gruplara göre daha fazla olduğu kaydedilmiştir. *Clostridia*, *Dorea*, *Prevotella* ve *Collinsella* cinsi bakterilerin ise Tip 2 DM grubunda sağlıklı bireylere göre daha yüksek bir orana sahip olduğu tespit edilmiştir. *Bacteroides*in sağlıklı ve bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerde Tip 2 DM tanısı olan kişilere göre daha yoğun olduğu görülmüştür. *Verrucomicrobiae*'nin bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 DM gruplarında önemli ölçüde daha düşük bir bolluğa sahip olduğu görülmüş ve Tip 2 DM'nin potansiyel bir belirteci olabileceği düşünülmüştür (Zhang ve ark., 2013).

Sanna ve arkadaşlarının SCFA'ların insülin düzeyi ile ilişkisi üzerine yaptığı bir çalışmaya 952 sağlıklı birey dahil edilmiştir. SCFA üreten bakteri türlerinin yoğun olduğu sağlıklı bireylerde, insülin cevabını artırdığı görülmüş ve özellikle bütirat üreten bakterilerin Tip 2 Diyabete karşı koruyucu rolü olduğu çalışmada rapor edilmiştir (Sanna ve ark., 2019).

Garcia-Mantrana ve arkadaşları, beslenme alışkanlıklarının bağırsak mikrobiyota bileşimine etkisini belirlemek için gönüllü sağlıklı bireyleri çalışmalarına dahil etmiştir. Çalışmada mikrobiyotanın alışkanlıklara bağlı hastalık riski için (Tip 2 Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, obezite) potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği

düşünülmüştür. Sağlıklı gönüllülerden alınan beslenme bilgileri Gıda Sıklığı Anketi kullanılarak kaydedilmiştir. Mikrobiyota bileşimini belirlemek için ise 16S rRNA tekniği kullanılmıştır. Çalışma sonucunda akdeniz diyeti ile uyumlu olarak Bacteroidetes ve Bifidobakteriler pozitif bir ilişki gösterirken, hayvansal protein diyeti ile daha yüksek Firmicutes/Bacteroidetes oranı pozitif bir ilişki göstermiştir. Akdeniz diyetini fazla tüketen kişilerde SCFA'lar daha yoğun görülmüştür. Normal kilolu bireylerin mikrobiyotasında fazla kilolu olanlara kıyasla daha yüksek miktarda Christensenellaceae tespit edilmiştir. Bu çalışma da diyet bileşenlerinin mikrobiyota çeşitliliğini ve aktivitesini etkileyebileceğini ve bu durumun da hastalık riskini artırarak konakçı metabolizması üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir (Garcia-Mantrana ve ark., 2018).

Liu ve arkadaşları, prebiyotik müdahalesi ile bağırsak mikrobiyotası değişiminin glukoz intoleransına olan etkisini belirlemek için 35 sağlıklı bireye yüksek doz prebiyotik olarak Fruktooligosakkarit (FOS) veya Galaktooligosakkarit (GOS) vermiş; her iki grupta da Bifidobacteriumun nispi oranında önemli bir artış saptanmıştır. GOS grubunda ise Ruminococcus gibi bütirat üreten bakterilerin azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde açlık kan şekerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, GOS'un, bütirat üreten bakteri düzeylerini azaltarak glikoz metabolizması üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini; ayrıca tedavilerde bireyselleştirilmiş prebiyotik müdahalesinin önemini vurgulamaktadır (Liu ve ark., 2017).

Gurung ve arkadaşları, sistematik bir derlemede Tip 2 DM tanısı olan 42 insan çalışmasından elde edilen sonuçları incelemiştir. İncelenen 42 çalışmada Tip 2 DM tanısı olan insanların mikrobiyotasında Bacteroides, Faecalibacterium, Akkermansia ve Roseburia cinsleri daha az oranlarda bulunurken, Ruminococcus, Fusobacterium ve Blautia cinslerinin daha fazla oranlarda olduğu görülmüştür. Bacteroidetes/Firmicutes oranı ise Tip 2 DM ile tutarlı ilişkiler göstermemiştir (Gurung ve ark., 2020).

Greer ve arkadaşlarının İnterferon gama, bağırsak mikrobiyotası ve glukoz toleransı ilişkisi üzerine yaptığı çalışmada, İnterferon gama verilen farelerin kontrol farelerine göre glukoz toleransının kötüleştiği kaydedilmiştir. Kontrol grubu ve İnterferon gama verilen fare mikrobiyotası karşılaştırıldığında, Akkermansia muciniphilanın İnterferon gama alan farelerde önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Glukoz toleransının kötüleşmesi bağırsak mikrobiyotasındaki Akkermansia muciniphilanın miktarının azalmasına bağlanmıştır. İnterferon gama alan gruba daha sonra Akkermansia muciniphila desteği verilince glukoz

toleransının iyileştiği gözlenmiştir. Çalışmada Akkermansia muciniphilanın konakçı glukoz metabolizması üzerindeki yararlı etkisi gösterilmiştir (Greer ve ark., 2016).

Xu ve arkadaşları Tip 2 DM hastalarında dört bitkiden oluşan karışımın glukoz toleransı üzerine etkilerine bakmış ve bu etkilerin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisini incelemiştir. Verilen bitki karışımının ana bileşenleri baicalin, puerarin ve berberin olarak yer almaktadır. 12 haftalık araştırmada bitki karışımı ve plasebo alan gruplar karşılaştırıldığında, bitki karışımını alan grubun glisemik kontrolünün önemli ölçüde iyileştiği görülmüştür. Mikrobiyota bileşimi incelendiğinde ise dört bitkiden oluşan karışım spesifik olarak Faecalibacterium ve Bifidobacterium'un miktarlarını artırmıştır. Bu sonuç, bitki takviyesinin bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler aracılığıyla oluşan antidiyabetik etkisi ile ilişkilendirilmiştir (Xu ve ark., 2015).

Martinic ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere Lactobacillus plantarum takviyesi yapılmış ve mikrobiyota bileşimi ve metabolik etkileri incelenmiştir. Yüksek yağlı diyet alan 20 farenin 10 tanesine Lactobacillus plantarum verilmiş, kalan 10 tane fare ise plasebo grubu olarak belirlenmiştir. Altı haftalık çalışmanın sonununda vücut ve organ ağırlıklarına bakılmış, Lactobacillus plantarum takviyesi alan ve plasebo grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Lactobacillus plantarum takviyesi alan grupta plasebo grubuna göre glukoz toleransının arttığı ve inflamasyon parametrelerinin anlamlı olarak iyileştiği görülmüştür. Bu çalışma, Lactobacillus plantarum takviyesinin yüksek yağlı diyetle bile faydalı bir probiyotik olduğu fikrini desteklemektedir (Martinic ve ark., 2018).

Le ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, streptozotosin ile oluşturulan Tip 1 diyabetli farelere Bifidobacterium türleri verilerek kan şekeri seviyeleri ve insülin tepkileri ölçülmüştür. Bifidobacterium türleri konakçı organizmasında, insülin cevabını artırmış ve kan şekeri düzeyi ile IL-6 ekspresyonunu azaltmıştır. Bu sonuç, Bifidobacteriumun diyabet tedavisi için umut verici bir probiyotik olabileceğini düşündürmüştür (Le ve ark., 2015).

Kikuchi ve arkadaşlarının bifidobakterilerin obezite ve lipid metabolizmasındaki rollerini aydınlatmak amaçlı yaptığı bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere 4 hafta boyunca oral sterilize bifidobakteriler verilmiştir. Çalışmaya yalnızca yüksek yağlı diyetle beslenen kontrol grubu fareler ve yüksek yağlı diyetle beslenip bifidobakteri alan fare grubu olmak üzere 2 grup dahil edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Bifidobakteri alan grubun tükettikleri gıda miktarı değişmese de, kilo alımı ve vücut yağ kütesinin önemli ölçüde

azaldığı tespit edilmiştir. Bifidobakteri alan grupta kan şekeri, trigliserit, lipopolisakkarit seviyeleri ve insülin direncinin azaldığı ve glukoz toleransının iyileştiği sonucuna ulaşılmıştır (Kikuchi ve ark., 2018).

Fei ve Zhao'nun yaptığı bir çalışmada morbid obez bir insanın bağırsağından izole edilen *Enterobacter cloacae* B29 bakterisinin mikropsuz farelere verildiğinde obezite ve insülin direncine neden olduğu görülmüştür. Bu sonuç, *Enterobacter cloacae* B29'un konakçıda obezite ve insülin direnci gelişimi açısından nedensel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür (Fei ve Zhao, 2013).

Qi ve arkadaşları, polikistik over sendromlu bireylerin bağırsak mikrobiyotasını incelemiş ve *Bacteroides vulgatus*'un belirgin şekilde mikrobiyotada arttığını göstermiştir. Polikistik over sendromlu bireylerin dışkı mikrobiyotasının mikropsuz farelere nakli yapıldığında glikoz seviyelerinde artış ve insülin direnci oluştuğu ve seks hormonları seviyelerinde farklılıklara yol açtığı görülmüştür. Bu sonucun *Bacteroides vulgatus* nakli ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Qi ve ark., 2019).

Pedersen ve arkadaşları, diyabetik olmayan yalnızca insülin direnci olan 277 Danimarkalı bireyin bağırsak mikrobiyotasını incelemiştir. *Prevotella copri* ve *Bacteroides vulgatus* türlerinin miktarının önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüş ve bu bakterilerin insülin direnci ve bozulmuş glikoz intoleransı ile pozitif ilişkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Pedersen ve ark., 2016).

Allin ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada prediyabetli hastaların mikrobiyotasını incelemiştir. *Clostridium* ve *Akkermansia muciniphila*'nın prediyabetli hastaların bağırsak mikrobiyotasında azaldığı görülmüş ve anormal bağırsak mikrobiyotasına sahip oldukları gözlenmiştir (Allin ve ark., 2018).

Xu ve arkadaşları, 258 hastayı kan şekeri düzeyi, glukoz toleransı, kolesterol ve trigliserid düzeylerini göz önüne alarak sınıflandırmış ve bağırsak mikrobiyotasını incelemiştir. En düşük kan şekeri ve yüksek insülin duyarlılığı olan bireylerin bağırsak mikrobiyotasında *Bacteroidetes* filumundan *Alistipes* cinsi bakteri yoğun olarak görülmüştür. Orta düzeyde kan şekeri, ciddi insülin direnci, yüksek kolesterol ve trigliserit seviyeleri ile karakterize edilen grubun bağırsak mikrobiyotasında *Prevotella copri* ve *Ruminococcus gnavus* türlerinin zenginleştiği görülmüştür. Yüksek düzeyde kan şekeri ve insülin eksikliği ile karakterize olan grubun bağırsak mikrobiyotasında ise *Prevotella copri* ve *Bacteroides vulgatus* yoğunluğu

artmıştır. Bu spesifik çoğalmaların glikoz metabolizmasının mikrobiyota ile ilişkili değişikliklerini daha iyi yansıttığı düşünülmüştür (Xu ve ark., 2023).

Düzgün ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, obez, prediyabetik, diyabetik ve sağlıklı bireylerin bağırsak mikrobiyota çeşitliliği değerlendirilmiştir. Tip 2 diyabetik hastalarının dışkı mikrobiyotasında Bifidobacterium miktarının diğer gruplara göre (sağlıklı, prediyabetik ve obez) arttığı gözlenmiştir (Düzgün ve ark., 2022).

## **2.2. Yapay Tatlandırıcılar**

Tatlılık, insanların bebeklik döneminden itibaren tat alıcıları aracılığıyla algıladıkları yiyecek ve içeceklerin bir özelliğidir (Magnuson ve ark., 2016). Düşük kalorili ve kalorisiz yapay tatlandırıcılar, şekere alternatif olarak ortaya çıkan, gıdalara tatlılık vermesi ve şekerden alınan kalori miktarının düşürülmesi amaçlanan bir gıda katkı maddesi grubudur (Samaniego ve ark., 2021). İnsanlar, karbonhidrat ve enerji alımlarını kontrol etmek için kalorili tatlandırıcı yerine besleyici olmayan tatlandırıcılar kullanmaya başlamışlardır. Besleyici olmayan tatlandırıcılar, diyet içecekler, diyet yoğurtlar, tatlılar ve sakızlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli amaçlarla kullanılan bu tatlandırıcılar, çalışmalarda yüksek yoğunluklu tatlandırıcılar, besleyici olmayan tatlandırıcılar, kalorisiz tatlandırıcılar, yapay tatlandırıcılar gibi başlıklarla incelenmektedir (Fitch ve Keim, 2012; Samaniego ve ark., 2021). Bunlar arasında sakkarin, aspartam, neotam, asesülfam potasyum ve sukraloz gibi birçok yapay tatlandırıcı bulunmaktadır (Moriconi ve ark., 2020).

İlk yapay tatlandırıcı olan sakkarin, şekerin pahalı olması nedeniyle şekere ulaşacak ekonomik durumu olmayan insanlar için 1885'te Constantin Fahlberg tarafından üretildi. Bu ticari başarının ardından farklı yapay tatlandırıcı çalışmaları hız kazanmıştır (Merki, 1993)

Aşırı şeker tüketimi, obezite, insülin direnci, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve Tip 2 DM gibi metabolik sonuçları nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Glukoz, fruktoz, sükroz ve yüksek fruktozlu mısır şurubu beslenmemizde fazlaca yer alan şekerlerdir. Şekerli içeceklerin ve gıdaların tüketiminin son 30 yılda önemli ölçüde arttığı görülmüştür (Ma ve ark., 2022). Şeker tüketimini azaltmak için sukroz, glukoz, fruktoz tüketimine bir alternatif olarak tatlandırıcılara yönelim artmıştır (Plaza-Diaz vd. 2020). Yapay tatlandırıcıların tatlılık dereceleri sukroz referans alınarak ifade edilir. Sukroz ise sofr şeker olarak adlandırdığımız çay şekeridir (Temizkan, 2012). Tatlandırıcılar sükrozdan birkaç yüz ila

binlerce kat daha tatlıdır ve çok fazla kalori içermezler. Ayrıca metabolik olarak inert ve belirgin fizyolojik etkileri olmadığı düşünülerek önerilmiştir (Del Pozo ve ark., 2022).

Amerika Birleşik Devletleri'nde tatlandırıcıların tüketim sıklığını öğrenmek amaçlı yapılan kesitsel araştırmalarla çocukların %25'inin ve yetişkinlerin %41'inin tatlandırıcı tükettiği bildirilmiştir. Ayrıca obez bireylerde normal kilolu bireylere göre kullanımının arttığı görülmüştür. Yüksek gelir grubundaki kişilerin orta gelir grubuna göre kalorisiz yapay tatlandırıcıları daha çok tercih ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Sylvetsky ve ark., 2017). Yapay kalorisiz tatlandırıcıların güvenliği ve sağlık yararları, yapay tatlandırıcı tüketimine paralel olarak artan obezite ve Tip 2 DM insidansı nedeniyle araştırma konusu olmaya devam etmektedir (Sharma ve ark., 2016).

Düşük kalorili tatlandırıcıların sağlık üzerindeki etkileri konusunda önemli tartışmalar mevcuttur. Hayvanlar ve insanlar üzerinde yürütülen araştırmalar, düşük kalorili tatlandırıcı tüketimi ile kilo alımı ve diyabet arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösterirken, bazı çalışmalarda ise daha düşük beden kitle indeksi ve kilo kaybı ile pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Schulze ve ark., 2004; Rogers ve ark., 2016; Miller ve ark., 2014).

Yapay tatlandırıcı içeren gıdaları tüketen kişiler tüketmeyenlere kıyasla artan genel kanser riskiyle ilişkilendirilmiş ve kanserin önlenmesi için değiştirilebilir bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür (Debras ve ark., 2022b; Diaz ve ark., 2023).

Yapay tatlandırıcılardan olan aspartam asesülfam potasyum ve sukraloz tüketimi, serebrovasküler olaylar ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirilmiştir. Yapay tatlandırıcıya bağlı kardiyometabolik riskin doğrudan etki ile oluşabileceği gibi, yapay tatlandırıcıların tetiklediği obezite, hiperkolesterolemi, insülin direnci ve Tip 2 DM gibi metabolik değişikliklerin sonucu olarak da gelişebileceği düşünülmüştür (Debras ve ark., 2022a).

Kalorisiz yapay tatlandırıcıların metabolik sendroma (kardiyovasküler hastalık ve Tip 2 DM, hipertansiyon, proinflatuar durum, aterojenik dislipidemi, obezite, glukoz intoleransı) etkileri farklı potansiyel mekanizmalara odaklanılarak araştırılmıştır. Bunlardan biri tatlı tat reseptörleri ile etkileşime giren kalorisiz yapay tatlandırıcıların bağırsak hormonlarına etkileridir. İkinci bir mekanizma olarak, kalorisiz yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyota bileşimi ile ilişkisi üzerine araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca kalorisiz yapay tatlandırıcıların

tatlılığa karşı öğrenilmiş tepkilere etkisi de çalışmalara konu olmuştur (Liauchonak ve ark., 2019).

Tatlı tat algısı, lingual papillaların tat tomurcukları içinde yer alan dilin tat reseptörlerinin aktivasyonu ile başlar. Tip 1 tat reseptörleri (tatlı tat) ve tip 2 tat reseptörlerinin (acı tat) her ikisi de G proteinine bağlı reseptörlerdir. Bu reseptörlerin aktivasyonu, inozitol trisfosfat (IP3) ve diasilgliserol (DAG) gibi tat-transdüksiyon kanallarının aktivasyonuna yol açan ikinci haberciler üretir ve bu habercilerle tatlı tat algılanmış olur (Roper ve Chaudhari, 2017). Tatlı tat reseptörleri gastrointestinal sistem boyunca, özellikle enteroendokrin L ve K hücrelerinde bulunur. Enteroendokrin hücrelerde bulunan tatlı tat reseptörlerine glukozun bağlanması ile L hücrelerinden Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1) ve peptit YY (PYY) salgılanarak tokluk artar (Steinert ve ark., 2011). Kalorisiz yapay tatlandırıcılar, ağız boşluğunda bulunan tatlı tat reseptörlerine bağlanarak tatlı tada yol açtığından enteroendokrin hücrelerde bulunan tatlı tat reseptörlerini de aktive edebileceği varsayılmıştır. Bir in vitro çalışmada, sukralozun insan enteroendokrin L-hücre hattından GLP-1 sekresyonunu uyardığı, ayrıca GLP-1 ve glukozla bağlı insülinotropik peptit (GIP) salınımını artırdığı gösterilmiştir (Jang ve ark., 2007). İnsanlardaki bir çalışmada kalorisiz tatlandırıcıların glukoz ile birlikte verildiği zaman sinerjistik etki göstererek GLP-1 salınımını artırdığı görülmüştür (Temizkan, 2012). Ford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise oral sukralozun GLP-1, PYY ve GIP sekresyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Ford ve ark., 2011). Bu nedenle, çalışma sonuçları tartışmalı da olsa kalorisiz yapay tatlandırıcıların, bağırsak enteroendokrin hücresi üzerindeki tatlı tat reseptörleri aracılığıyla glikoz homeostazında yer alan hormonların salınmasını teşvik edebileceği düşünülmektedir (Liauchonak ve ark., 2019).

Sakkarin, aspartam, sukraloz veya asesülfam potasyum gibi kalorisiz yapay tatlandırıcılar, çok çeşitli yiyecek ve içeceklerde sıklıkla kullanılmaktadır. İnsanlar vücut ağırlıklarını azaltmak için bu yapay tatlandırıcıları tercih ederler; ancak araştırmacılar tarafından yürütülen deneysel çalışmalarda yapay tatlandırıcıların tüketimi ile vücut ağırlığı arasında beklenenin dışında bir ilişki görülmüştür. Bu ilişkiye kalorisiz yapay tatlandırıcı tüketiminin yeme davranışında yol açtığı bozulma sonucu ortaya çıkan aşırı yeme isteğinin neden olduğu ileri sürülmüştür (Swithers ve ark., 2010; Swithers ve Davidson 2008).

Hamelin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, düşük doz sakkarin verilen farelerin dopamin ve serotonin konsantrasyonları incelenmiştir. Kontrol grubuna göre sakkarin verilen grupta dopamin seviyesinin azaldığı ve karar verme gibi bilişsel işlevlerde bozulmalar olduğu

görülmüştür. Ayrıca serotonin düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Hamelin ve ark., 2022).

Aoyama ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada sakkarin verilen ratlarda gıda tüketiminin ve vücut ağırlığının sakkarin verilmeyen gruba göre arttığını gözlemlemiştir. Çalışmada sakkarin tüketiminin tatlı tadı olan yiyeceklere karşı tokluk tepkisini bozduğundan dolayı gıda tüketimini artırdığı düşünülmüştür (Aoyama ve ark., 2020).

Stampe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, asesülfam-potasyum, sakkarin, siklamat ve sukraloz emziren kadınlara verilmiş ve tüm tatlandırıcıların anne sütüne aktarıldığı, muhtemelen emzirilen bebeği etkilediği gösterilmiştir. Anne sütüne aktarılan tatlandırıcı miktarının tatlandırıcılar arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği ve en çok asesülfam potasyumun, en az ise sukralozun anne sütüne geçtiği saptanmıştır (Stampe ve ark., 2022).

Huang ve arkadaşlarının, emzirme sırasında annenin diyet içecekler alımı yoluyla bebeklerin yapay tatlandırıcı maruziyeti ile bebeklerin sağlık durumları arasındaki ilişkiyi incelediği bir çalışmada, haftada bir kez sütteki düşük kalorili tatlandırıcıya maruz kalan bebeklerde maruz kalmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek kusma riski görülmüştür (Huang ve ark., 2021).

### 2.2.1. Kalorisiz tatlandırıcıların çeşitleri ve özellikleri

Kalorisiz yapay tatlandırıcılar, kimyasal sentezle elde edilir ve minimum ya da hiç besin içeriği olmaması nedeniyle dikkat çekmektedir. Asesülfam potasyum, aspartam, sakkarin ve sukraloz yaygın kullanılan sentetik kalorisiz tatlandırıcı çeşitleridir. Kalorisiz tatlandırıcıların özellikleri Tablo 2.6.' da verilmiştir.

**Tablo 2. 6.** Kalorisiz tatlandırıcıların özelliklerinin karşılaştırılması ve GKEAM (World Health Organization, 2023a; Food and Drug Administration, 2023; Magnuson ve ark., 2016)

Tatlandırıcı	E numarası	FDA Gıda ve İlaç Dairesi GKEAM	JECFA Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi GKEAM	25 Gr Şeker Yerine Geçen Yaklaşık Miktar (gram bazında sukrozla karşılaştırması)	Sukroza göre Tatlılık Yoğunluğu
Aspartam	E951	50 mg/kg	40 mg/kg	125 mg	200
Asesülfam Potasyum (Ace- K)	E950	15 mg/kg	15 mg/kg	125 mg	200
Sukraloz	E955	5 mg/kg	5 mg/kg	40 mg	600
Sakkarin	E954	15 mg/kg	15 mg/kg	80 mg	300
Steviol Glikozitler		4 mg/kg	4 mg/kg	80–125 mg	200

Kalorisiz tatlandırıcıların arasında günlük alım miktarı, kullanım alanları, sukroza kıyasla tat oranı, kimyasal yapıları gibi önemli farklılıklar vardır (Sylvetsky ve ark., 2011). Ancak hepsinin ortak özelliği, tatlı tat reseptörlerinin ligand bağlama bölgelerini güçlü bir şekilde aktive etme kabiliyetine sahip olmalarıdır (Del Pozo ve ark., 2022). Ek olarak, Rebaudiana (Bertoni) bitkisinin özlerinden yapılan doğal yoğun bir tatlandırıcı olan stevia da sıklıkla sukroza alternatif olarak kullanılmaktadır ve gıda katkı maddesi olarak onaylanmıştır (Magnuson ve ark., 2016).

### ***Aspartam***

Aspartam, meyve, sebze, kabuklu yemişler ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunan 2 amino asitten (L -aspartik asit ve L –fenilalanin) oluşan, beyaz, kokusuz kristal bir moleküldür. Butchko ve ark., 2002). Aspartam, kahvaltılık gevrek, sakız, dondurma, diş macunu, öksürük pastili, çığnenebilir ilaçlar gibi çeşitli yiyecek ve içecek ürünlerinde yaygın olarak kullanılan düşük kalorili kimyasal tatlandırıcılardan biridir (World Health Organization, 2023b).

Aspartam, esteraz ve peptidazların etkisiyle gastrointestinal kanalda hidrolize edilir. Aspartamın metabolizması sonucu metanol (%10), aspartik asit (%40), fenilalanin (%50) açığa çıkar ve bağırsak mukozasından emilir (Choudhary ve Lee, 2018). Bu metabolitlerin yüksek dozlarda ve uzun süreli tüketiminin -karşit görüşler olmasına rağmen- hematopoitik ve lenfoid doku tümörleri ile ilişkili bulunduğu çalışmalar mevcuttur (Humphries ve ark., 2008; Landrigan ve Straif 2021). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), sağlık üzerindeki etkilerine ilişkin değerlendirmeleri sonucunda aspartamı insanlar için kanserojen (özellikle karaciğer kanserinin bir türü olan hepatoselüler karsinom) olarak sınıflandırmıştır. Bunun üzerine FDA ve JECFA bilimsel literatürü gözden geçirmiş ve IARC'nin güvendiği çalışmalarda önemli eksiklikler belirlemişlerdir. FDA ve JECFA mevcut günlük kabul edilebilir alım miktarı altında aspartamın güvenli olduğunu açıklamış ve günlük kabul edilebilir alım miktarlarını değiştirmemiştir (World Health Organization, 2023b; Food and Drug Administration, 2023).

Fenilketonürisi olan kişiler aspartam kullanımından kaçınmalıdır. Aspartamın fenilketonürili hastalar üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle, FDA gerekliliklerine göre aspartam içeren tüm ürünlerde fenilalanin varlığını bildiren bir etiket bulunma zorunluluğu getirmiştir (Czarnecka ve ark., 2021).

### ***Sukraloz***

Sukraloz, gıdaların içeriğinde yaygın olarak kullanılan sentetik bir tatlandırıcıdır (Schiffman ve Rother, 2013). Sukraloz, sukrozun yaklaşık 600 katı tatlandırma potansiyeline sahip, oldukça tatlı bir bileşik olduğundan az miktarlarda bile kullanılması tatlı tat için yeterli olmaktadır (Magnuson ve ark., 2016).

Sukralozun metabolizma çalışmalarında biyolojik olarak birikmediği gösterilmiştir. Sukralozun oral tüketiminden sonra yaklaşık %85'i emilmez ve değişmeden dışkıyla atılır (Sims ve ark., 2000). Sukralozun yaklaşık %15'i ortak faz II metabolizmasına, özellikle de glukuronidasyona uğrar ve glukuronid konjugatları idrarla atılır; herhangi bir biyolojik birikim olmadan elimine edilir (Roberts ve ark., 2000; Berry ve ark., 2016). Yapılan bir fare çalışmasında oral olarak verilen 100-3000 mg/kg miktarlarındaki sukralozun 72 saat içinde %94 ila %99'u değişmemiş sukraloz olarak atılmıştır (John ve ark., 2000). Oral dozun bu kadar büyük bir kısmının emilmemesi nedeniyle herhangi bir gastrointestinal yan etki beklenmemesine rağmen sukralozun güvenliği ile ilgili çelişkili sonuçlar çalışmalarda ortaya çıkmaktadır (Abou ve ark. 2008; Del Pozo ve ark. 2022).

Sukraloz ilk olarak 1989 yılında JECFA tarafından onaylanmış ve 3,5 mg/kg/gün miktarında geçici bir GKEAM belirlenmiştir. Daha ileri bilimsel çalışmalar yapıldıktan sonra, JECFA GKEAM düzeyini tekrar belirlemiş ve sukraloz dünyadaki halk sağlığı otoriteleri tarafından güvenli bulunmuştur (World Health Organization, 2023a; Food and Drug Administration, 2023; Food Standards Australia New Zealand 2023). Sukraloz, kalori açısından tüketicilerin yanı sıra gıda üreticilerinin de ilgisini çeken bazı özelliklere sahiptir. Yapılan duyuşal çalışmalar sukralozun diğer tatlandırıcılarda hissedilen acı tada sahip olmadığını göstermektedir (Grotz ve Munro, 2009; Horne ve ark., 2002). Sukralozun aynı zamanda imalat süreçlerinde meydana gelen yüksek sıcaklıklarda, değişen pH değerlerinde oldukça stabil olması ve tatlılık seviyesini koruması tercih edilmesinin diğer bir sebebidir (Jenner ve Smithson, 1989).

### ***Asesülfam Potasyum***

Asesülfam potasyum 1967'de bir araştırmacının yeni sentezlenmiş bileşiği yanlışlıkla tatmasıyla keşfedilmiş kalorisiz yapay bir tatlandırıcıdır (Rymon Lipinski ve Hanger, 2001). Asesülfam potasyum, sofrta şekerinden yaklaşık 200 kat daha tatlıdır (Food and Drug Administration, 2023). Gıdalarda stabilitesini uzun süre korur. Yüksek sıcaklıklarda bozulmaya karşı dirençli, suda çözünebilen bir tatlandırıcıdır. Ağzda acı bir tat bıraktığı için çoğunlukla

diğer tatlandırıcılarla birlikte gıdalarda kullanılır (Wilk ve ark., 2022). Yapılan çalışmalar ışığında, FDA ve JECFA 0-15 mg/kg/günlük bir GKEAM belirlemiş ve güvenli kullanımını doğrulamıştır (World Health Organization, 2023a; Food and Drug Administration, 2023).

Asesülfam K'un mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak oda sıcaklığında uzun süre bozulmadığı, 6 yıldan uzun süre ışık altında tutulan örneklerin yeni üretilen Asesülfam-K'dan farkının olmadığı tespit edilmiştir (Örkü, 2020).

Asesülfam potasyum oral olarak tüketildiğinde büyük bir kısmı emilerek sistemik dolaşıma katılmaktadır. Emilen Asesülfam K kan dolaşımı ile vücuttaki dokulara yayılır ve en yüksek doku konsantrasyonunun görüldüğü sistem gastrointestinal ve üriner sistemdir (Magnuson ve ark., 2016). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Asesülfam potasyumun yüksek dozlarda plasentadan geçtiği ve fetal dokularda yayılım gösterdiği gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Asesülfam K yapısal olarak bir potasyum tuzudur ve potasyumdan kısıtlı diyet uygulayan kişilerde kullanımı konusunda sonuçlar belirsizdir. Bununla birlikte, asesülfam potasyum 15 mg/kg/gün kullanıldığında, 60 kg'lık bir birey için günde 900 mg tüketilmiş olacaktır. Asesülfam potasyumun ağırlığının %20'si potasyum olduğundan günde 900 mg Asesülfam potasyum tüketimi bireyin günlük alımına 180 mg potasyum ekleyecektir. Ortalama bir porsiyon diyet sodada ise en fazla 12 mg potasyum olduğunu düşünürsek potasyumdan kısıtlı diyet yönetimi yapan kişilere bu doz hesaplaması fayda sağlayacaktır (Magnuson ve ark., 2016).

Asesülfam K yaygın bir şekilde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu kalorisiz tatlandırıcı vücutta metabolize edilmez ve %98'i böbrekler yoluyla idrarla, %1'den azı ise dışkıyla atılır (Magnuson ve ark., 2016). Yaygın bir şekilde kullanılması çevrede atık olarak bulunmasına yol açmaktadır. Asesülfam K çözülmeden atıldığı için yüzey sularında miktarı yoğun bir şekilde tespit edilmiştir; bu ortaya çıkan miktar kirletici maddelerin çoğundan çok daha yüksek orandadır. Yapılan çalışmalarda, asesülfam K'nın mikroorganizmalar tarafından bozulmaya ve doğal çevre koşulları altında hidrolize karşı son derece dirençli olduğu, su ortamında asesülfam potasyumun sürekli birikmesine yol açtığı görülmüştür (Gan ve ark., 2013). Asıl sorun, kimyasal yollarla dönüştürülen asesülfam K'nın yan ürünlerinin asesülfam K'dan daha toksik olmasıdır; bu da sentetik gıda katkı maddeleri açısından gıda/çevre endüstrileri için bir başka zorluk teşkil etmektedir (Li ve ark., 2016). Kalorisiz tatlandırıcılar metabolik olarak inert şeker ikameleri olarak tasarlanmış olsa da, yoğun kullanımı son zamanlarda çevresel kirletici madde olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle, asesülfam K'yı

kirlenmiş sudan etkili bir şekilde uzaklaştırmak için yeni tekniklerden yararlanmanın çok önemli olduğu vurgulanmaktadır (Carocho ve ark., 2017)

### ***Sakkarin***

Sukrozdan 300 kat daha tatlı olan en eski kalorisiz tatlandırıcı olan sakkarin 1878'de keşfedilmiştir ve o zamandan beri tatlandırıcı olarak kullanılmaya devam edilmektedir. Sakkarin içeceklerde, yiyeceklerde ve kişisel bakım ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ağızda acı bir tat bırakma özelliği nedeniyle çoğunlukla diğer tatlandırıcılarla birlikte kullanılır. Sakkarin metabolize edilmez ve kalori içeriği sıfırdır (Pavanello ve ark., 2023; Wilk ve ark., 2022). İnsanlarda, tüketilen sakkarinin yaklaşık %85 ila %95'i emilir ve idrarla atılır, geri kalanı ise dışkıyla atılır. Plasentadan geçer, fetal dokuda tespit edilir; ancak birikmez. Anne sütüne de geçer (Magnuson ve ark., 2016; Sylvetsky ve ark., 2015). Emilmeyen sakkarinin küçük bir kısmı dışkıya atılır; bu da yüksek dozlarda kullanımının bağırsak mikrobiyal popülasyonunun bileşiminde değişikliklere yol açabileceğini düşündürmektedir (Lobach ve ark., 2019). Yıllar önce yapılmış çalışmalarda sakkarinin erkek sıçanlarda mesane tümörlerine neden olduğu bildirilmiştir (Schoenig ve Anderson, 1985; Taylor ve ark., 1980). Ancak sakkarin ile yapılan başka bir çalışmada ise mesane tümörlerinin indüklenmediği gösterilmiştir (Althoff ve ark., 1975). Son deneysel verilerin ve epidemiyolojik çalışmaların incelendiği bir derlemede sakkarin de dahil olmak üzere; kalorisiz tatlandırıcı tüketimiyle kanser riskine ilişkin hiçbir kanıt olmadığı sonucuna varılmıştır (Pavanello ve ark., 2023).

### ***Steviol Glikozitler***

Steviol glikozitleri, Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinden elde edilen, besleyici olmayan, tatlı tada sahip bileşik içeren bir tatlandırıcıdır. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin yapraklarından 10 tane steviol glikozit izole edilmiştir. Yaprığında en çok bulunan steviol glikozitler ise steviosid ve rebaudiozit A'dır (Plaza-Diaz ve ark., 2020; Magnuson ve ark., 2016). Stevia, 1887'de botanikçi Antonio Bertoni tarafından keşfedilmiştir. Tatlılığından dolayı steviaya Paraguay'ın tatlı yaprağı, şeker yaprağı, bal yaprağı, tatlı yaprak, tatlı bitki gibi birçok isim verilmiştir (Carakostas ve ark., 2008). Rebaudiana Bertoni bitkisinin güvenlik, metabolizma ve klinik çalışmaları sonucunda 2008 yılında saflaştırılmış steviol glikozitlerin kullanımı JECFA ve FDA tarafından onaylanmıştır (Magnuson ve ark., 2016). Steviol glikozitleri, diyabetik ve obez kişilerde alternatif tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisi üzerine yapılan çalışmalarda, antibakteriyel, antiinflamatuvar,

hipotansif, antiseptik, diüretik etkiler gösterdiği ve dermatit, akne, egzama gibi cilt hastalıklarında tedaviye olumlu katkısı olduğu görülmüştür (Arumugam ve ark., 2020).

Steviol glikozitler üst gastrointestinal sistemde mevcut olan asitler tarafından hidrolize edilmez ve gastrointestinal sistemin üst kısmından emilmez. Bu nedenle emilmeden gastrointestinal sistemin üst kısmından geçerler ve sağlam moleküller olarak kolona ulaşırlar. Kolonda Bacteroidacea familyasının bakterileri tarafından Steviol glikozitleri, steviola hidrolize olur. Ortaya çıkan steviol, bakteriyel bozulmaya karşı dirençli olduğundan bağırsak mikrobiyotası için bir substrat değildir. Böylece steviol tamamen emilir ve glukuronik asit ile konjuge olduğu karaciğere ulaşır. Steviol glukuronid insanlarda esas olarak idrarla atılır (Plaza-Diaz ve ark., 2020).

### **2.2.2. Yapay tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotası ve glisemi ile ilişkisi**

Klasik tatlandırıcılar olarak bilinen sukroz, glukoz, doğal şeker şurupları ve yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketiminin bilinen olumsuz sağlık etkilerine ilişkin endişeyi gidermek için yiyecek ve içecek ürünlerinde artık sıklıkla yapay kalorisiz tatlandırıcılar kullanılmaktadır. Bununla birlikte, klasik tatlandırıcılarının yapay kalorisiz tatlandırıcılar ile değiştirilmesinin potansiyel faydalarının aksine, bazı çalışmalarda yapay kalorisiz tatlandırıcı tüketiminin glukoz intoleransı, kardiyovasküler hastalık, bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozis gibi fizyolojik etkilerle ilişkili olduğu görülmüştür (Debras ve ark., 2022a; Plaza-Diaz ve ark., 2020). Bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozis, lipopolisakkarit başta olmak üzere bakteriyel endotoksinlerin bağırsak bariyerinden geçişinin artmasına neden olur ve düşük seviyede de olsa metabolik endotoksemi oluşturur (Howard ve ark., 2022). Metabolik endotoksemi, insülin direnci, hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile ilişkili sistemik inflamasyona yol açar. Yapılan araştırmalarda obezite, diyabet ve insülin direnci olan bireylerde sağlıklı bireylere göre artmış plazma lipopolisakkarit seviyeleri görülmüş ve bu sonuç bozulmuş bağırsak bariyer geçirgenliği ile ilişkilendirilmiştir (Cani ve ark., 2007; Moreno-Navarrete ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının probiyotik ve prebiyotik içerikli gıdaların tüketimi ile modülasyonu, insülin direnci ve klinik durumların tedavilerini yönetmede etkili görülmüştür (Moroti ve ark., 2012; Floch ve ark., 2005).

Yapay tatlandırıcıların hem bağırsak mikrobiyotasını hem de konakçının bu bileşiklere verdiği tepkileri doğrudan veya dolaylı yoldan şekillendirme potansiyelinin, karşıt görüşlü çalışmalara rağmen, yüksek olduğu görülmüştür. Yine de yapay tatlandırıcıların etkilediği

bağırsak mikrobiyotası ve değişen bağırsak mikrobiyotasının konakçıya olan etkisi, altta yatan mekanizmalar tanımlanarak değerlendirilmelidir (Richardson ve ark., 2022).

Yapay tatlandırıcılar, bağırsak mikrobiyotasının metabolizmasını şekillendirerek müsin üretimi, bağırsak bariyer fonksiyonu ve bağırsak epiteli üzerinde etki göstererek mikrobiyota bileşimini değiştirebilir (Richardson ve ark., 2022). Yapay tatlandırıcılardan asesülfam potasyum uygulaması *Akkermansia muciniphila*'nın tükenmesi ile ilişkilendirilmiştir (Plaza-Diaz ve ark., 2020). Bir başka çalışmada ise etki mekanizmasının belirsizliğini korumasına rağmen *Akkermansia muciniphila*'nın farelerde yağ kütlesi gelişimi, insülin direnci ve dislipidemiye azalttığı keşfedilmiştir (Plovier ve ark., 2017). Bu iki ayrı çalışma değerlendirildiğinde, tatlandırıcıların metabolik olaylarda etkisi daha net anlaşılmaktadır. Ayrıca, yapay tatlandırıcıların bakteriyel hücre zarlarına zarar verebildiğine, antibiyotiğe benzer bir etkiyle hücresel geçirgenliği değiştirebildiğine, antibiyotik direnç genlerinin yayılmasını teşvik edebildiğine ve bakteriyel konjugasyonu arttırdığına dair bazı kanıtlar oluşmuştur (Yu ve ark. 2021). Yapılan bu çalışmada tatlandırıcıların reaktif oksijen türlerini artırdığı da görülmüştür. Reaktif oksijen türlerinin ise yüksek açlık kan şekeri ve yüksek glikozillenmiş hemogloblin düzeylerine yol açabileceği bildirilmiştir (Suez ve ark. 2014, Yu ve ark. 2021).

Bian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 37,5 mg/kg/gün dozunda asesülfam potasyum dört hafta boyunca farelere uygulanmıştır. Çalışma sonucunda asesülfam K verilen erkek farelerde kontrol grubuna kıyasla bağırsak mikrobiyotasında *Bacteroides* ve *Sutterella* yüksek oranda artarken, dişi farelerde kontrol grubuna kıyasla *Lactobacillus* ve *Ruminococcaceae* önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca erkek farelerde vücut ağırlığının artışına neden olmuştur; dişi farelerde bu artış gözlenmemiştir. Ayrıca çalışmada kronik inflamasyonla ilişkili olan genlerin artışı gözlenmiş ve sonuçta metabolik sendrom açısından risk oluşturabileceği düşünülmüştür (Bian ve ark., 2017).

Abou-Donia ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Splenda (sukraloz), 12 hafta boyunca farelere 100, 300, 500 veya 1000 mg/kg dozunda oral sonda ile verilmiştir. 12 haftalık tedavi periyodunun sonunda toplam anaerob, Bifidobakteri, Laktobasil, *Bacteroides*, Clostridia ve toplam aerobik bakteri sayılarının önemli ölçüde azaldığı görülmüş; ancak enterobakterler üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (Abou-Donia ve ark., 2008).

Falcon ve arkadaşları 17 gün boyunca ratları tatlandırıcı içeren (sakkarin ve siklamat) ticari bir yoğurt veya sofru şekeri ile tatlandırılmış yoğurt ile beslemiştir. Gruplar karşılaştırıldığında bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun önemli ölçüde değişmediği bulunmuştur. Sonuçlar bu deneysel modelde, yapay tatlandırıcıya orta derecede maruz kalmanın, sofru şekeri ile karşılaştırıldığında bağırsak mikrobiyota düzenindeki değişikliklerle ilişkili olduğu hipotezini desteklememektedir (Falcon ve ark., 2020).

Bueno-Hernandez ve arkadaşlarının yaptığı, insülin direnci olmayan 18 ila 35 yaş arası sağlıklı genç erişkinlerde yürütölen randomize, paralel, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada 137 katılımcı, sukraloz ve plasebo alacak şekilde randomize edilmiştir. Katılımcılara oral glukoz tolerans testi, serum insülin düzeyi, glukoz ölçümü yapılmış ve veriler, kronik sukraloz tüketiminin, normal vücut kitle indeksine (18,5 ve 24,9 kg/ m<sup>2</sup> arasında) sahip, insülin direnci olmayan sağlıklı genç erişkinlerde insülin ve glukoz tepkilerini etkileyebileceğini göstermesine rağmen daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır (Bueno-Hernandez ve ark., 2020).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada farelere 8 hafta boyunca sukraloz içme suyunda uygulanmış ve bağırsak mikrobiyotasında alfa çeşitliliği, Actinobacteria ve Proteobacteria'da hiçbir değişiklik bulunamamış, ancak Firmicutes grubunun bolluğunda bir artış gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 2018).

Thomson ve arkadaşları sukraloz ile ilgili yaptığı randomize, çift kör bir çalışmaya 34 sağlıklı erkeği (18–50 yaş) dahil etmiştir. On yedi kişiye bir hafta boyunca günde 780 mg dozunda sukraloz ve kontrol grubuna ise plasebo uygulanmıştır (n=17). Bu çalışmada, sukralozun 7 gün süren kısa çalışma süresi sonunda bağırsak mikrobiyotasında önemli bir değişiklik oluşturmadığı, açlık kan şekeri düzeyi ve serum insülin konsantrasyonunu etkilemediği görölmüştür (Thomson ve ark., 2019).

Suez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, fareler 11 hafta boyunca yüksek dozda sakkarine maruz bırakılmıştır. Sakkarin tüketen farelerde belirgin glukoz intoleransı görölmüştür. 11 hafta boyunca sakkarin ile beslenen bu fareler, 4 hafta antibiyotiklerle tedavi edilmiş ve ilginç bir şekilde, sakkarinin neden olduğu glukoz intoleransının, 4 haftalık antibiyotik tedavisinden sonra önemli ölçüde düzeldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca 11 hafta sakkarin tüketen farelerden antibiyotik tedavisi öncesi alınan mikrobiyota bileşimi dışkı nakli ile mikropsuz farelere aktarılmıştır. Sağlıklı mikropsuz farelerde dışkı nakli sonucu disbiyoz ve

glukoz intoleransı gelişmiştir. Bu sonuç, yapay tatlandırıcının neden olduğu glukoz intoleransına çeşitli bakteriyel taksonların değişimi yoluyla aracılık ettiğini göstermektedir. Sakkarin tüketen farelerin 16S ribozomal RNA analizinde *Bacteroides vulgatus*, propiyonat ve asetat seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada sakkarinin bağırsak mikrobiyotasını doğrudan etkileyip etkilemediğini belirlemek için anaerobik koşullar altında saf farelerden alınan dışkı maddesi 9 gün boyunca sakkarin ile kültürlenmiş ve mikropsuz farelere nakledilmiştir. Bu farelere 6 gün sonra yapılan 16S ribozomal RNA analizinde, *Bacteroidetes* filumunda artış ve *Firmicutes* filumunda ise azalma gözlemlenmiştir. Bu mikrobiyota değişimine bozulmuş glukoz toleransı da eşlik etmiştir (Suez ve ark., 2014). Bu çalışmada aynı zamanda yedi sağlıklı bireyde günlük olarak 120 mg/gün dozda bir hafta sakkarin tüketiminin glukoz intoleransı geliştirdiği görülmüştür ve glukoz metabolizmasındaki değişikliklerin, bağırsak mikrobiyota disbiyozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Suez ve ark., 2014).

Suez ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, 120 sağlıklı yetişkine düşük dozlarda 2 hafta boyunca sakkarin, sukraloz, aspartam ve stevia verilerek, dışkı mikrobiyotası ve glisemik değerleri analiz edilmiştir. Sakkarin ve sukraloz alan grupların glisemik tepkilerinin bozulduğu ve tüm tatlandırıcıların insanların bağırsak mikrobiyotasında belirgin değişiklik yaptığı bildirilmiştir (Suez ve ark., 2022).

Debras ve arkadaşları, ayrıntılı diyet verilerine sahip, büyük ölçekli prospektif kohort çalışmasında yapay tatlandırıcıya maruz kalma ile Tip 2 DM riski arasındaki ilişkileri araştırmıştır. Çalışma sonuçları aspartam ve asesülfam K'nın Tip 2 DM riski arasında pozitif ilişkiler olduğunu göstermektedir. Sukralozun ise Tip 2 DM riski açısından daha fazla araştırılması ve bu yapay tatlandırıcıların şekere güvenli alternatifler olarak tüketim için tavsiye edilmemesi önerilmiştir (Debras ve ark., 2023).

Kim ve arkadaşlarının çalışmaları incelediği bir derlemede, tatlandırıcılara maruz kalmanın oluşturduğu bağırsak mikrobiyotası ve glukoz metabolizması modülasyonuna dair bazı kanıtlar olmasına rağmen yapay tatlandırıcı tüketiminin Tip 2 DM görülme sıklığı ve glisemik değerler üzerine etkisinin açık olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Kesin bir sonuca ulaşmak için uzun vadeli yapay tatlandırıcı tüketim çalışmalarına ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (Kim ve ark., 2019).

Grotz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sağlıklı gönüllü bireyler yaklaşık 1000 mg/gün sukraloz tüketmiştir. Sukraloz tüketimi sırasında HbA1c, açlık kan şekeri ve insülin haftalık olarak ölçülmüş ve çalışma boyunca glukoz, insülin ve HbA1c düzeyleri normal aralıkta seyretmiştir. Sukralozun 12 haftalık tüketimi sonrası glukoz homeostazisini anlamlı derecede değiştirmedeği görülmüştür (Grotz ve ark., 2003).

Higgins ve arkadaşları, aspartam tüketiminin glisemi üzerindeki etkisini sağlıklı yetişkinlerde değerlendirmiştir. Aspartam, 12 hafta boyunca 350 mg veya 1050 mg dozlarında verilmiştir. Çalışmanın sonunda, aspartamın her iki grupta da glukoz, HbA1c, insülin ve vücut ağırlığını önemli ölçüde değiştirmedeği görülmüştür (Higgins ve ark., 2018).

Gregersen ve arkadaşları, steviol glikozitin Tip 2 DM hastalarında akut etkilerini araştırmıştır. Tip 2 DM tanısı olan 12 hastanın yemeğine 1 g steviosid eklenmiş ve kan numuneleri yemekten 30 dakika önce ve 240 dakika sonra alınmıştır. Steviol glikozit kontrol grubuna göre glukagon ve glisemi düzeylerini azaltma eğilimi gösterirken, insülin ve glukagon benzeri peptid 1'i önemli ölçüde değiştirmedeği görülmüştür. Bu sonuç, Steviol glikozitin Tip 2 DM tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmüştür (Gregersen ve ark., 2004).

Olivier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hamilelik ve emzirme döneminde olan fareler sukraloz ve asesülfam K'ya maruz bırakılmıştır. Yavru farelerin maruziyetinin düşük olmasına rağmen Firmicutese önemli bir artış, Akkermansia muciniphilada ise azalma görülmüştür (Olivier ve ark. 2019).

Plaza-Diaz ve arkadaşları bir derlemede asesülfam K'un kolonik mikrobiyota ile neredeyse hiç temas etmemesine rağmen Firmicutesi artırıp ve Akkermansia muciniphilayı azalttığını belirtmiştir. Ancak insanlarda kesin bir etki oluşturmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu vurgulamıştır (Plaza-Diaz ve ark., 2020).

### **2.3. Kuersetin**

Kuersetin, polifenolik bileşiklerin alt kategorisinden biri olan flavonoid olarak sınıflandırılır. Lahana, soğan, çilek, elma, kırmızı üzüm, brokoli ve kirazın yanı sıra çayda bol miktarda bulunur (Xu ve ark., 2019). Kuersetin, meşe ormanı anlamına gelen quercetum'dan türetilmiştir. Flavonol sınıfına aittir ve insan vücudunda sentezlenmez (Li ve ark., 2016). Bitkilerdeki flavonoid içerikleri ve miktarları bitkiler arasında farklılık gösterdiği gibi, aynı bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek organlarında bile değişiklik gösterebilir. Flavonoidlerin bitkilerdeki konsantrasyonları çevresel faktörlerden etkilenebilmektedir (Sultana ve Anwar,

2008). Mitchell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada organik olarak yetiştirilen domateslerin, kimyasal olarak yetiştirilen domateslere göre %79 daha fazla kuersetin içerdiği tespit edilmiştir (Mitchell ve ark., 2007). Kuersetin, en yüksek konsantrasyonda kapari bitkisinde 234 mg/100 gr kadar bulunurken elmada 215,32 mg/100 gr oranında bulunmuştur (Bhagwat ve ark., 2011; Aherne ve O'Brien, 2002).

Kuersetinin diyetle alım miktarı, meyve, sebze ve çay tüketimine bağlı olarak günlük 4 ila 40 mg arasında değişmektedir. Kuersetin açısından zengin gıdaların daha fazla tüketilmesiyle hastalık ve ölüm oranlarında azalma olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ekstra miktarda sebze ve meyve ağırlıklı beslenenlerde 200-500 mg seviyelerine kadar yükselebilmektedir (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2020; Bigelman ve ark., 2010). Kuzey Çin'in Suihua bölgesinde kuersetin alımının 4,37 mg/gün olduğu rapor edilirken, Japonya'da ortalama kuersetin alımları 16,2 ve 15,5 mg/gün olarak bulunmuştur (Nishimuro ve ark., 2015; Sun ve ark., 2015).

İnsanlarda kuersetinin farmakokinetiği üzerine yapılan araştırmalar tek bir oral dozdan sonra oral biyoyararlanımın çok zayıf olduğunu göstermiştir. Kuersetinin doğal olarak oluşan formu olan kuersetin glukozidin tahmini Emilimi, 100 mg alan sağlıklı bireylerde %3 ila %17 arasında değişmektedir (Li ve ark., 2016). Kuersetin glikozitleri ince bağırsağa ulaştığında  $\beta$ -glukozidaz enzimlerinin etkisiyle emilmeden önce aglikonlara dönüştürülür (Shen ve ark., 2021). Glikozit, aglikon formuna hidrolize olduktan sonra kuersetinin Emilimi %65 ila %81 oranında yükselir (Deepika ve Maurya, 2022). Kuersetin lipofiliktir ve bu nedenle bağırsak membranından kolayca emilir. Kuersetin emildikten sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek gibi çeşitli organlarda metabolize olmasına rağmen yaklaşık %60 ila %81'i karaciğerde metabolize edilir. Kuersetin ve metabolitleri bağırsaklar ve böbrekler tarafından idrar yoluyla atılır. Son araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının da kuersetini daha kolay emilebilir moleküllere dönüştüren glikozidazların ve enzimlerin üretimine katıldığını ileri sürmektedir. İnsanlarda gıdalardan veya takviyelerden önemli miktarda kuersetin emilebilir ve eliminasyonu oldukça yavaştır; bildirilen yarılanma ömrü 11 ila 28 saat arasında değişmektedir (Shen ve ark., 2021; Li ve ark., 2016). Ferry ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kuersetin için güvenli doz 945 mg/m<sup>2</sup> belirlenmiş; toksik dozda ise kusma, nefrotoksisite, serum potasyum düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir (Ferry ve ark., 1996).

### **2.3.1. Kuersetinin farmakolojik etkisi**

Kuersetinin kanser, alerjik reaksiyonlar ve kardiyovasküler bozuklukların tedavisinde

alternatif olarak kullanıldığı bilinmektedir. Kuersetinin glutatyon içeriğini artırarak hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif hasardan koruduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca trombosit agregasyonunda ve lipitlerin peroksidasyonunda önemli bir rol oynar. Farmakolojik olarak antiobezite, antiinflamatuvar, vazodilatör, antidiyabetik, antiviral, antihipertansif ve antihiperkolesterolemik aktivitelere sahiptir. Gıda takviyesi olarak kapsül ve toz formunda preparatları mevcuttur (Batiha ve ark., 2020; Lyu ve ark., 2022). Tablo 2.7.'de kuersetinin çeşitli özelliklerinin etki mekanizmalarını vurgulamaktadır (Deepika ve Maurya, 2022)

**Tablo 2. 7.** Kuersetinin çeşitli özelliklerinin etki mekanizması (Deepika ve Maurya, 2022).

Etkileri	Etki mekanizması
1 Antiinflamatuvar	Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) üretimini indükler ve İnterlökin-4 (IL-4)'ün inhibisyonu yoluyla aracılık eder.
2 Antikanser	Apoptoz yollarını indükler ve hücre döngüsünü inhibe eder.
3 Antioksidan	Kuersetin, serbest radikalleri baskılayarak malondialdehit seviyesini düşürür. Ayrıca glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak etki eder.
4 Antidiyabetik	Kuersetin, kan şekeri seviyelerini düşürür ve langerhans adacık hücrelerinin fonksiyonunu ve insülin salgılayan $\beta$ hücre sayısını korur.
5 Nörodejeneratif	Kuersetin, lipit peroksidasyonunu azaltır ve dolayısıyla nöronların oksidatif hasarını önler. Nöroinflamasyonu hafifletir. Nöroprotektif etkiler gösterir.

Kuersetin kozmetik ve farmasötik alanda önemli bir bileşen olarak yer almaktadır. Kuersetin tek başına takviye olarak uygulandığı gibi bazı ilaçlarla kombinasyon tedavilerinde etkinliği araştırılmıştır. Kuersetin sisplatinle kombine edildiğinde sinerjistik etkilere sahip olduğu belgelenmiş, amfoterisin B ile birlikte verildiğinde amfoterisin B'nin yan etkisini azaltarak antifungal etkinliğini arttırdığı bildirilmiş, balık yağı ile kombine tedavisinde ise sıçan beyinlerinde nöroprotektif etki görülmüştür (Denny Joseph ve Muralidhara, 2015; Rauf ve ark., 2018; Oliveira ve ark., 2018).

### 2.3.2. Kuersetinin bağırsak mikrobiyotası ve glisemi ile ilişkisi

Kuersetin, gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerden biridir. Polifenoller, yüksek moleküler ağırlığa ve karmaşık yapıya sahip olduğu için ince bağırsakta bu komplekslerin yalnızca %5-%10'u emilmektedir. Yaklaşık %90-%95'i kolona ulaşır ve bağırsak mikrobiyotası bu komplekslerin parçalanmasında ve emilebilir metabolitlere dönüştürülmesinde önemli bir

rol oynar (Shabbir ve ark., 2021). Kuersetinin metabolitlerine dönüşümünden sorumlu bakteriler, *Escherichia coli*, *Streptococcus lutetiensis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Weissella confusa*, *Enterococcus gilvus*, *Clostridium perfringens* ve *Bacteroides fragilis* olarak tanımlanmıştır (Zhang ve ark., 2014).

Ettxeberria ve arkadaşlarının yüksek yağlı sakkaroz diyeti ile bağırsak mikrobiyota disbiyozu oluşturulan ratlarda resveratrol ve kuersetin uyguladığı çalışmada; kuersetin takviyesinin, Firmicutes/Bacteroidetes oranını zayıflattığı ve diyete bağlı obeziteyle ilişkilendirilen bakteri türlerinin (*Erysipelotrichaceae*, *Bacillus*, *Eubacterium cylindroides*) büyümesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Her iki polifenolün birlikte uygulanması serum insülin düzeylerini düşürmüş ve vücut ağırlığı artışını önlemiştir (Ettxeberria ve ark., 2015).

Abdel-Latif ve arkadaşlarının piliçlerde yaptığı bir çalışmada, kuersetinin *Escherichia coli* ve *Clostridium* miktarını azalttığı, *Lactobacillus* sayısını ise önemli ölçüde artırarak bağırsak mikrobiyotasını iyileştirdiği görülmüştür (Abdel-Latif ve ark., 2021)

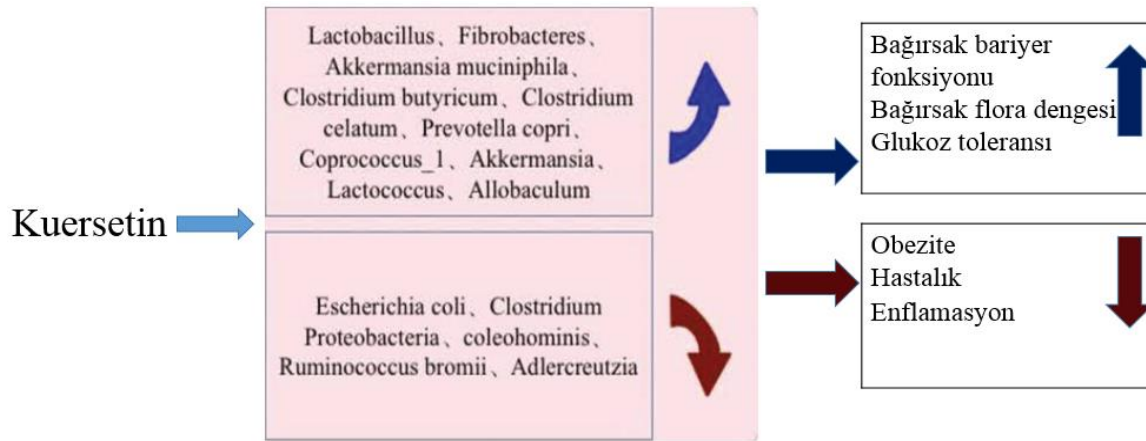
Xu ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir çalışmada, kuersetin takviyesinin *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium celatum* ve *Prevotella coprinin* miktarını artırdığı, Proteobakteriler, *Lactobacillus coleohominis* ve *Ruminococcus bromiinin* ise azaldığı görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada antioksidan kapasite indekslerinin (glutatyon ve katalaz) arttığı ve malondialdehitin azaldığı kaydedilmiştir (Xu ve ark., 2021).

Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada deneysel kolit modelinde kuersetinin, kolitin etkilerini hafiflettiği, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskıladığı ve kolon dokularında IL-10 üretimini teşvik ettiği görülmüştür. Ayrıca kuersetin takviyesinin *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Clostridia* popülasyonlarını arttırırken, *Fusobacterium* ve *Enterococcus* popülasyonlarını önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir (Lin ve ark., 2019).

Shi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, farelerde antibiyotik ile başarılı bir şekilde indüklenen bağırsak disbiyozu sonucu kuersetin takviyesinin bağırsak mikrobiyotasını önemli ölçüde iyileştirildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada kuersetinin bağırsak villusunun uzunluğu, mukozal kalınlığı ve dışkıda bütirat üretimini önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Kuersetinin bağırsak disbiyozuna karşı olan mücadelesinde prebiyotik olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (Shi ve ark., 2020).

Kısa zincirli yağ asitlerinden olan asetat, propiyonat ve bütiratın bağışıklık sistemini düzenleyerek inflamasyonu kontrol ettiği, kan şekerini ve yağ metabolizmasını olumlu yönde etkilediği ve bağırsak homeostazisinin korunmasında önemli olduğu bilinmektedir. Kısa zincirli yağ asitlerinin yüksek miktarlarda üretilmesinin diyetle ilgili obeziteyi azalttığı ve insülin duyarlılığını artırdığı raporlanmıştır (Canfora ve ark., 2015; Puertollano ve ark. 2014; Tan ve ark., 2014). Ayrıca tek başına bütiratın diyet takviyesinde yüksek yağlı diyetin neden olduğu obeziteyi ve insülin direncini önlediği gösterilmiştir (McNabney ve ark., 2017).

Kuersetin bağırsak mikrobiyotasının modülasyonuna odaklanarak, diyabet ile ilgili metabolik bozukluklar üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir derlemede glisemik durumu iyileştirdiği görülmüştür. Ancak tamamlayıcı bir tedavi olarak kuersetin takviyesinin etkinliği hakkında karar vermek için daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (Roshanravan ve ark., 2023). Kuersetinin bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla metabolik bozukluklardaki işlevi Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Chen ve ark., 2022).



Şekil 2. 1. Kuersetinin bağırsak mikrobiyotası aracılığıyla metabolik bozukluklardaki işlevi (Chen ve ark., 2022)

Kuersetin bağırsak mikrobiyotası modülasyonunu sağladığı, antioksidan kapasiteyi ve kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini artırdığı literatür taramasında konuyla ilişkin bazı çalışmalarda görülmüştür. Yukarıda bahsedilen etkileri nedeniyle, kuersetin bu tez çalışmasında bağırsak mikrobiyotası ve glisemi üzerinde düzenleyici rolünü araştırmak amacıyla tercih edilmiştir.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Wistar Albino türü ratlar üzerinde yapılan in vivo bir çalışmadır.

#### 3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı

Çalışmada 10 haftalık, 200-250 gr ağırlığında, 48 adet erkek Wistar Albino türü rat KONÜDAM'dan temin edilmiştir. Hayvanlar çalışma boyunca bu merkezde 12/12 saat aydınlık karanlık periyodunda tutulmuştur. Ayrıca ratlar için odalarda uygun ısı ( $20\pm 2$  °C), nem ( $50\pm 5$ %) ve havalandırma (15 kez/saat %100 temiz hava) sağlanmıştır. Deney hayvanları ad libitum beslenmiştir. Her gün Wistar Albino türü ratların kafes temizliği yapılarak yemleri değiştirilmiştir. İçme suları bazı gruplarda tatlandırıcı içerdiği için düzenli aralıklarla ölçüm yapılarak değiştirilmiştir. İçme suyu ölçümü yapılmasının amacı, tatlandırıcı tüketimine planlanan dozda maruz bırakmak içindir.

#### 3.2. Araştırmanın Örnekleme ve Deney Protokolü

Bu in vivo çalışmada Wistar Albino türü ratlarda tatlandırıcılara maruziyetin mikrobiyota ve glisemi düzeyi üzerine etkileri ile kuersetin takviyesinin bu parametrelerde görülen değişimlerdeki etkinliği incelenmiştir. Çalışmada 10 haftalık toplam 48 hayvan kullanılmıştır. Her birinde 8 hayvan olmak üzere toplam 6 grup oluşturulmuştur. Hayvanlar kontrol grubu ve yalnız kuersetin verilen grup dışında 42 gün boyunca gruplarına göre içme suyunda asesülfam potasyum veya sukraloza maruz bırakılmış ve bazı gruplara oral yol ile kuersetin verilmiştir.

Birinci gruptaki (kontrol grubu) hayvanlara deney süresince normal içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

İkinci gruptaki hayvanlara deney süresince normal içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 30 mg/kg kuersetin verilmiştir.

Üçüncü gruptaki hayvanlara deney süresince 37,5 mg/kg/gün oranında asesülfam potasyum içeren içme suyu, ratların günlük sıvı tüketimi takip edilerek verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1 ml serum fizyolojik verilmiştir.

Dördüncü gruptaki hayvanlara deney süresince 37,5 mg/kg/gün oranında asesülfam potasyum içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile kuersetin 30 mg/kg verilmiştir.

Beşinci gruptaki hayvanlara deney süresince 11 mg/kg/gün oranında sukraloz içeren içme suyu, ratların günlük sıvı tüketimi takip edilerek verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile 1ml serum fizyolojik verilmiştir. Altıncı gruptaki hayvanlara deney süresince 11 mg/kg/gün oranında sukraloz içeren içme suyu verilmiştir. Ayrıca günlük olarak oral gavaj ile kuersetin 30 mg/kg verilmiştir.

Projede başlangıçta ve deney sürecinde 6 defa her hayvandan lanset ile delinerek kuyruktan 2-3 damla kan alınıp mobil kan glukoz seviyesi ölçüm cihazı ile açlık kan glukoz seviyesi analizleri yapılmıştır. Ölçümden 6 saat önce hayvanların yemleri kafeslerden alınarak ölçümden hemen sonra tekrar koyulmuştur.

Deney başında, ortasında ve deney sonunda toplam 3 defa bütün hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür.

Deney sonunda hayvanların gaita örnekleri alınıp, 16S rRNA sekanslaması tekniği ile mikrobiyota analizleri yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan asesülfam potasyum ve sukraloz SFN Kimya'dan temin edilmiştir. Kuersetin, gıda takviyesi olan Lipozone Lipozomal Quercetin 125mg Kapsül olarak temin edilmiştir.

### **3.3. Veri Toplama ve Analiz**

#### **3.3.1. Kan glukoz seviyesi ölçümleri**

42 gün süren projede deney başlangıcında (1. Gün) ve deney süresinde 6 defa olmak üzere (7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günler) her hayvandan lanset ile delinerek kuyruktan 2-3 damla kan alınıp mobil kan glukoz seviyesi ölçüm cihazı (Accu-Chek Active) ile açlık kan glukoz seviyesi analizleri yapılmıştır. Ölçümden 6 saat önce hayvanların yemleri kafeslerden alınarak ölçümden hemen sonra tekrar koyulmuştur. Ölçüm proje ekibi tarafından KONÜDAM'da gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3.2. Vücut ağırlığı ölçümleri**

Deney başında, ortasında ve deney sonunda (1. 22. ve 42. günler) toplam 3 defa bütün hayvanların vücut ağırlıkları ölçümü elektronik terazi ile yapılmıştır. Ölçüm proje ekibi tarafından KONÜDAM'da gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3.3. Su tüketimi takibi**

Damla akıtmaz özel şişelere konulan içme sularının tüketim miktarı için, başlangıç saatinde konulan sıvı miktarı ve 24. saat sonunda şişe içinde kalan sıvı miktarı (ml) arasındaki fark bulunmuştur. Bulunan miktar, kafes içerisindeki (her kafeste 4 rat) rat sayısına bölünerek

günlük sıvı tüketimi olarak hesaplanmıştır. Deney boyunca günlük içme suyu miktarı ratlar tarafından yeterli derecede alınmış ve istenilen dozda tatlandırıcı maruziyeti oluşturulmuştur.

### 3.3.4. Gaita örneklerinin alınması ve mikrobiyota analizi

Mikrobiyota analizi için deney sonunda gaita örnekleri 2ml kriyo tüpler içine alınmıştır. Dışkı örnekleri, 16S rRNA sekanslaması tekniği analizine kadar %99'luk Ethanolde kriyo tüpler içerisinde +4 °C'de saklanmıştır.

Çalışmada 6 farklı deney grubu ve her deney grubundan 5 adet olmak üzere toplanan dışkı örnekleri %99'luk Etanolde kriyo tüpler içerisinde süspanse edilmiştir. Dışkı (Fekal) örneklerden Total Genomik DNA İzolasyonu QIAamp PowerFecal DNA Kit (Cat No./ID: 12830-50) kullanılarak DNA izolasyonu işlemi gerçekleştirilmiş; izolasyonları yapılan örneklerin kalite tayinlerini belirlemek ve görselleştirmek için %0,8'lik agaroz jelde görüntüleri elde edilmiştir. Sonrasında, total DNA izolatlarından 16S rRNA genlerinin V3-V4 hiper-değişken bölgesinin Bacteria-Archaea özgü barkodlu evrensel oligonükleotidler (Tablo 3.1) (~468 bç) kullanılarak ve PCR ile ampikon inşaları yapılarak PCR işleminden sonra PCR ürünlerinin kalite tayinleri için %1'lik agaroz jelde görüntüleri elde edilmiştir.

**Tablo 3. 1.** Ampikon PCR'da kullanılan barkodlu evrensel oligonükleotidler (Brown ve ark., 2017).

Primer Adı	Primer Dizisi
V3V4F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG
V3V4R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC

Ampikon PCR sonrasında ~480 bç. altındaki non-spesifik bağlanmalar, primer dimerleri ve primer kalıntıları boncuk tabanlı saflaştırma kiti kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Daha sonra saflaştırılması tamamlanan örneklerin dizileme işlemi için kütüphaneleri hazırlanarak dizileme işlemi birleştirilmiş kütüphanelerin Illumina Miseq platformunda, 2 x 251 bç regeantı (V2- 500 flow cell) kullanılarak ileri ve geri yönlü okumalar (pair-end) olacak şekilde dizileme işlemi yapılmıştır. Dizileme sonucunda elde edilen kısa okumaların kalite skorlarının kontrol edilmesi amacıyla FastQC v0.11.5 kullanılmıştır (Brown ve ark., 2017).

Sonrasında bu dizilerden adaptörleri ve kalitesiz okumaları/dizileri uzaklaştırmak için Trimmomatic-0.33 programı kullanılmıştır (Bolger ve ark., 2014).

### 3.4. İstatistiksel Analiz

KONÜDAM laboratuvarında elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verilmiş ve tanımlayıcı istatistiklerle ifade edilmiştir. Sayısal değişkenlerin (ağırlık, glukoz) analizinde karma etki modelleri (linear mixed model) kullanılmıştır. Posthoc olarak Tukey

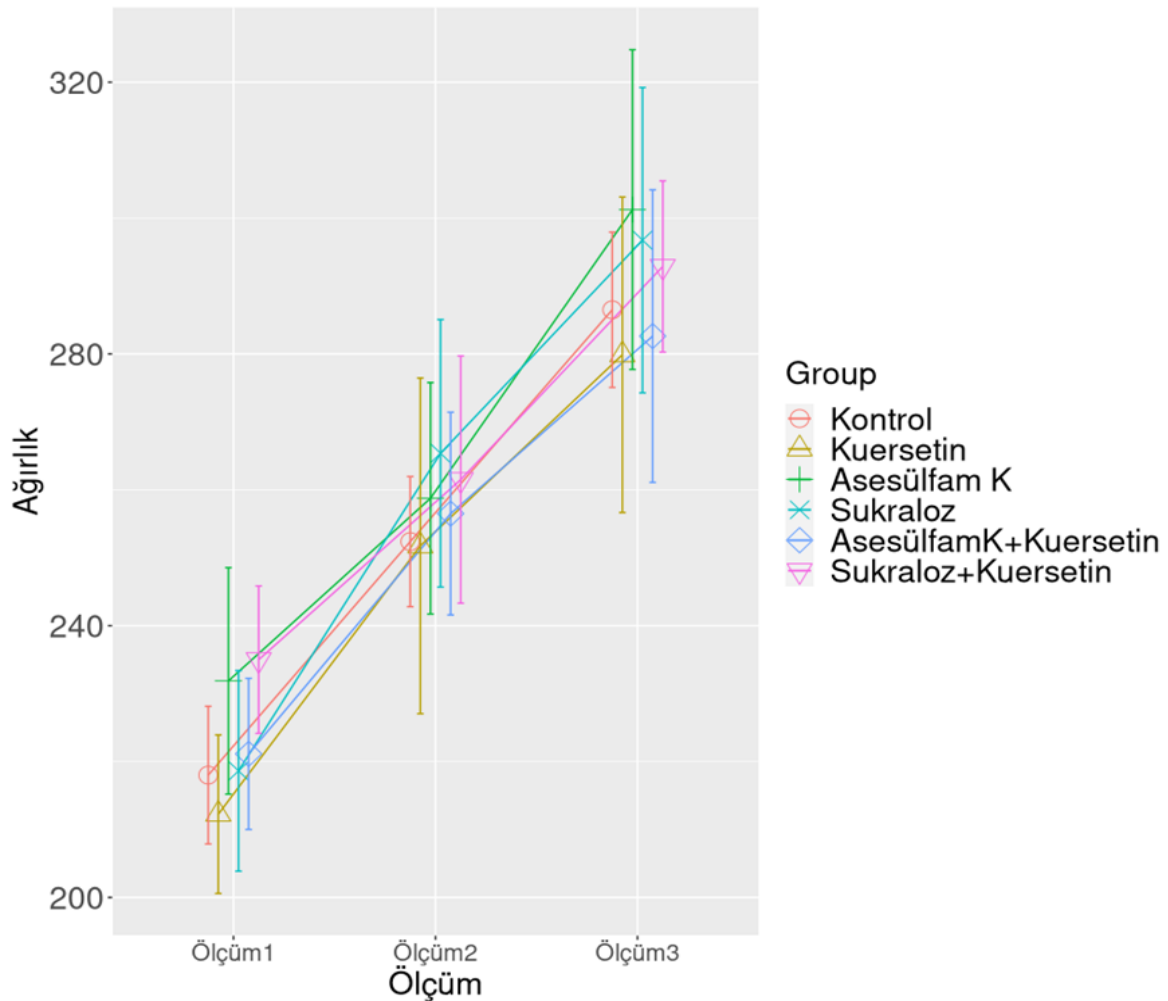
düzeltilmeli en küçük kare ortamları karşılaştırılmıştır. Analizler R 4.3.2 (R Core Team, 2024) programı ile yapılmıştır. 16S rRNA sekanslaması analizinde, her bir grubun hem grup içi hem de gruplar arası (Alfa ve Beta) çeşitlilik analizleri QIIME2 paketinde yer almaktadır. Sonrasında mikrobiyota kompozisyonundaki Moleküler Operasyonel Taksonomik Birimler (MOTUs) QIIME2 içerisinde yer alan VSEARCH (Rognes ve ark., 2016) kullanılarak belirlenmiştir. Alfa çeşitlilik için Shannon indeksi ve Faith's PD indeksi, Beta çeşitlilik için ise Jaccard indeksi ve Bray-Curtis indeksi yapılmıştır. Ayrıca ikili gruplar arasında normal dağılım göstermeyen (non-parametrik) analizler için Kruskal-Wallis ve Pairwise Permanova analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## 4.BULGULAR

Deney başından sonuna kadar elde edilen bulgular vücut ağırlıkları, açlık kan glukoz seviyeleri ve mikrobiyota analizleri olarak 3 başlıkta değerlendirilmiştir.

### 4.1. Vücut Ağırlıkları

Deney süresince asesülfam potasyum, sukraloz ve kuersetin maruziyeti ratların sağlık koşullarında olumsuz durum meydana getirmemiştir. Deney başında (ölçüm1), ortasında (ölçüm2) ve deney sonunda (ölçüm3) toplam 3 defa bütün hayvanların vücut ağırlıkları elektronik terazi ile ölçülmüştür. Deneyin ortasında ve sonunda hayvanların vücut ağırlıklarında zaman içinde büyümeye bağlı artış kaydedilmiştir ( $p<0,05$ ). Deney süresince gruplarda kaydedilen bu artışın kontrol grubuna kıyasla analizinde ve tüm grupların birbiri ile ikili karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Ratların vücut ağırlığındaki değişim Şekil 4.1.'de verilmiştir. Deney gruplarının ağırlık ortalamaları (g) Tablo 4. 1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 1. Deney gruplarının vücut ağırlık artışları (gram)

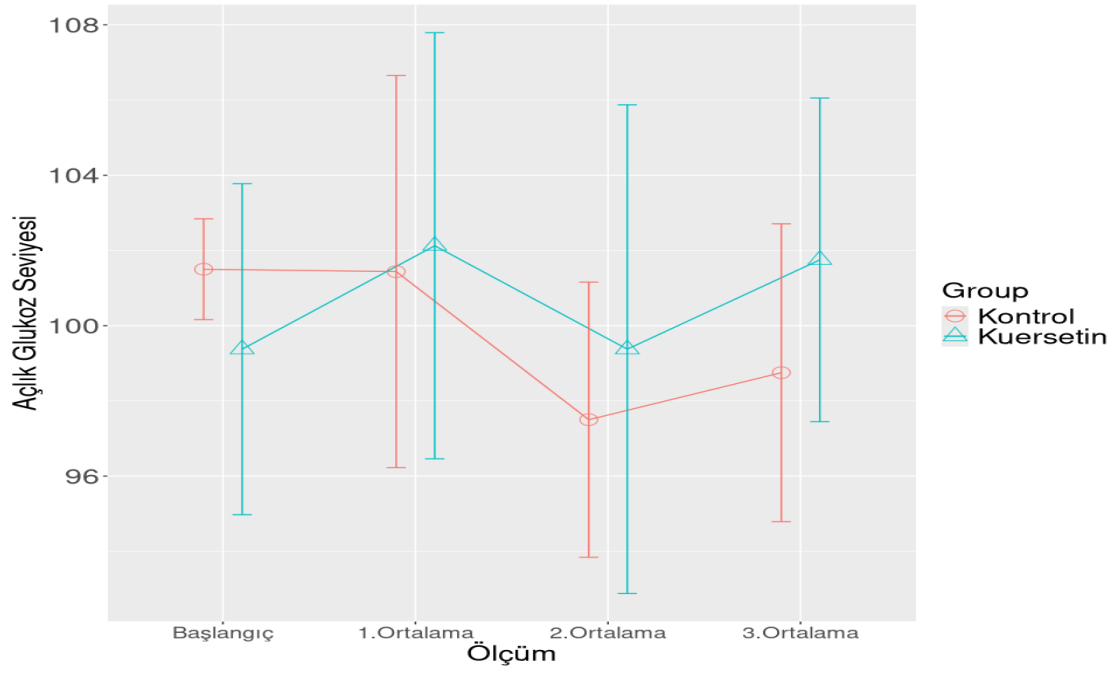
**Tablo 4. 1.** Deney gruplarının ağırlık ortalamaları (gram)

Ortalama± SS	K	TK	A	AK	S	SK
1. Ölçüm	218.00±12.12	212.25±13.96	231.88±19.94	221.13±13.30	218.63±17.65	235.00±12.97
2. Ölçüm	252.38±11.46	251.75±29.55	258.75±20.38	256.50±17.85	265.38±23.55	261.50±21.76
3. Ölçüm	286.50±13.67	279.88±27.77	301.25±28.15	282.63±25.76	296.75±26.88	292.88±15.07

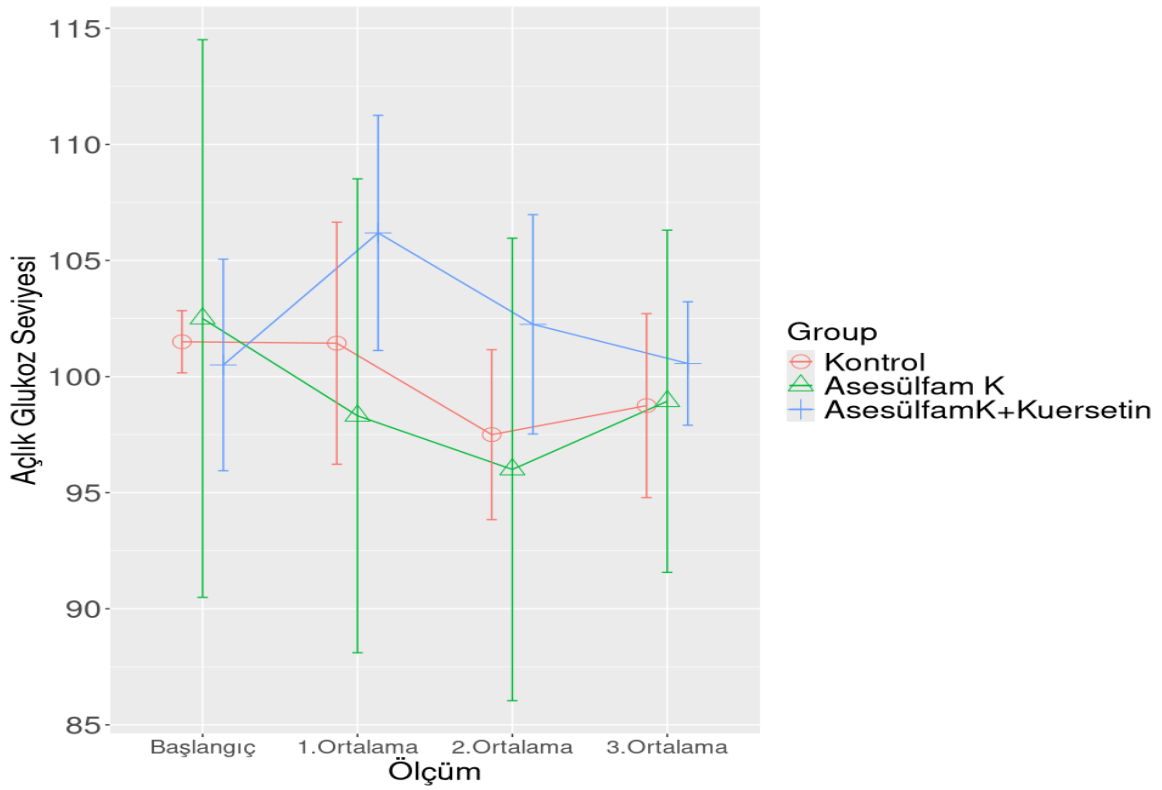
K: Kontrol                      AK: Asesülfam K+kuersetin                      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz                      TK: Kuersetin                      SK: Sukraloz+kuersetin

#### 4.2. Kan Glukoz Seviyeleri

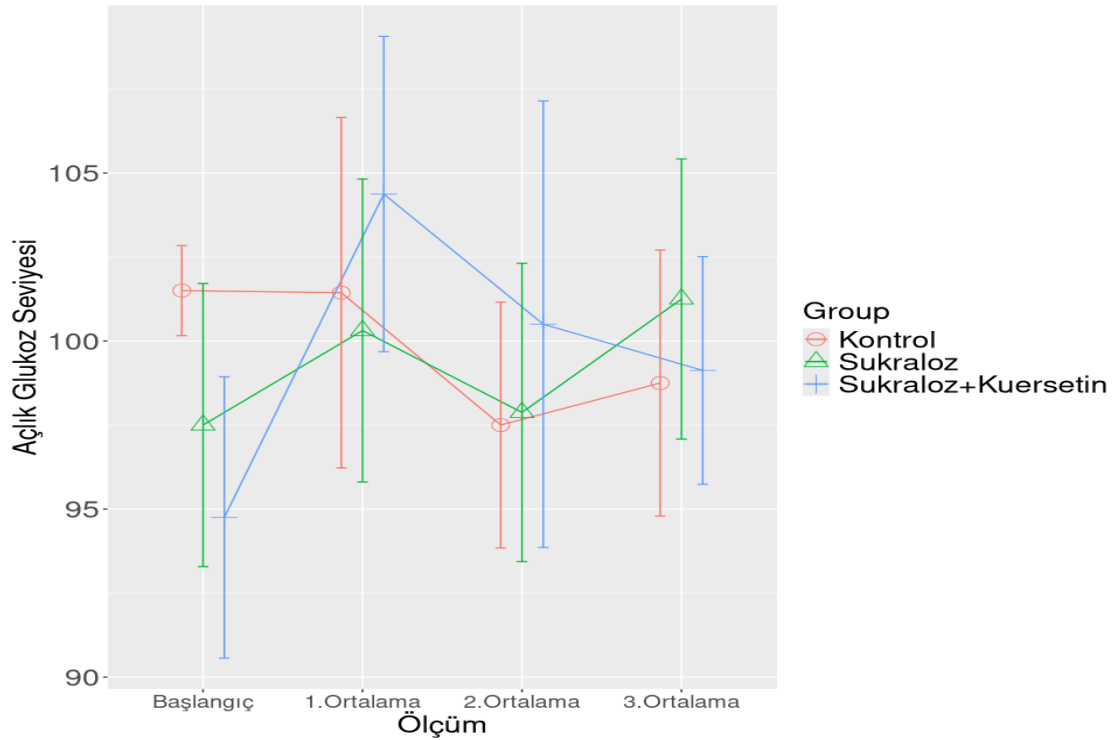
Deney süresince başlangıçta ve deney sırasında 6 defa olmak üzere her hayvandan açlık kan glukoz seviyesi ölçümleri yapılmıştır. Açlık kan şekerleri 4 veri halinde analiz edilmiştir. İlk ölçüm 'Başlangıç' olarak adlandırılan deney başlangıcında tüm gruplardan alınan değerlerdir. Daha sonraki ölçümlerde; 1. ve 2. haftalardaki ölçümün ortalaması '1. Ortalama', 3. ve 4. haftalardaki ölçümün ortalaması '2. Ortalama', 5. ve 6. haftalardaki ölçümün ortalaması ise '3. Ortalama' olarak analiz edilerek sonucu grafiklerde verilmiştir. Bütün deney grupları arasında başlangıç ve bitiş (3. ortalama) kan glukoz seviyeleri arasındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Deney sürecinde Asesülfam K grubunda başlangıç ve 2. ortalama değerleri arasında düşme ( $p=0,021$ ), Sukraloz+kuersetin grubunda ise başlangıç ve 1. ortalama değerleri arasında yükselme ( $p<0,001$ ) şeklinde grupların kendi içinde değişim görülmüştür; ancak bu değişimler başlangıç ve son değerler (3. ortalama) arasında anlamlı değildir ( $p>0,05$ ). Ayrıca deney süresince tüm grupların kan glukoz seviyelerinde her 3 ortalama değer açısından kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Deney gruplarının kan glukoz seviyelerinin karşılaştırıldığı grafikler Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. Deney gruplarının zamana göre kan glukoz seviyesi ortalamaları (mg/dL) Tablo 4. 2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 2. Kontrol ve Kuersetin grubunun kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL)



Şekil 4. 3. Kontrol, Asesülfam K ve Asesülfam K+Kuersetin gruplarının kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL)



Şekil 4. 4. Kontrol, Sukraloz ve Sukraloz+Kuersetin gruplarının kan glukoz seviyesi değişimleri (mg/dL)

Tablo 4. 2. Deney gruplarının zamana göre kan glukoz seviyesi ortalamaları (mg/dL)

Ortalama± SS	K	TK	A	AK	S	SK
Başlangıç	101.50±1.60	99.38±5.26	102.50±14.36	100.50±5.45	97.50±5.04	94.75±5.01
1. Ortalama	101.44±6.24	102.13±6.78	98.31±12.21	106.19±6.06	100.31±5.39	104.38±5.61
2. Ortalama	97.50±4.38	99.38±7.77	96.00±11.91	102.25±5.65	97.88±5.31	100.50±7.95
3. Ortalama	98.75±4.74	101.75±5.15	98.94±8.81	100.56±3.18	101.25±4.99	99.13±4.05

K: Kontrol                      AK: Asesülfam K+kuersetin                      A: Asesülfam potasyum

S: Sukraloz                      TK: Kuersetin                      SK: Sukraloz+kuersetin

### 4.3. Mikrobiyota Analizleri

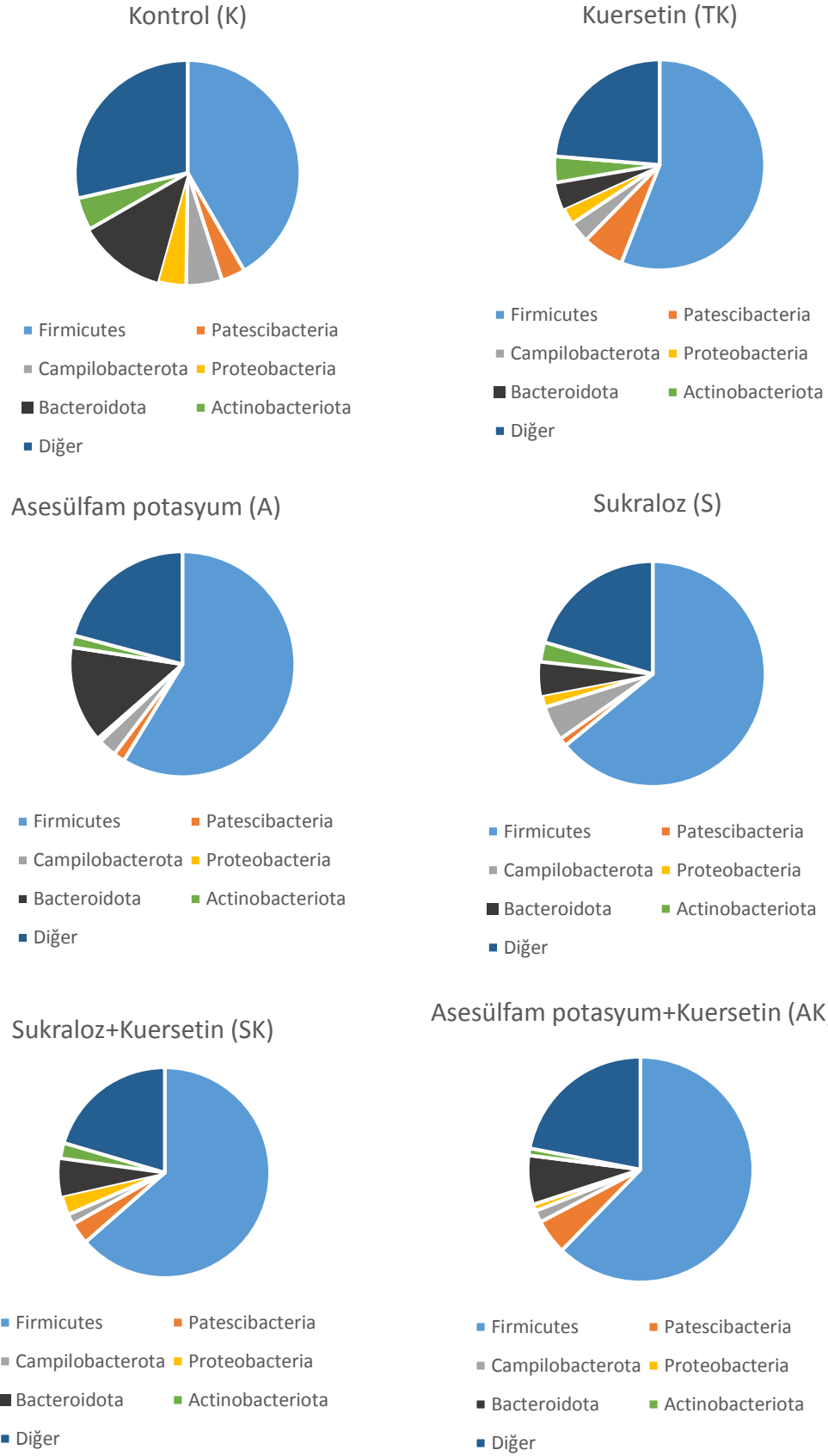
Analiz sonucunda mikrobiyotada baskın türler ve gruplara göre karşılaştırılması, toplam tür sayıları bu başlıkta verilmiştir. Mikrobiyota bulgularından alfa ve beta çeşitlilik analizleri ise alt başlıklarda gösterilmiştir.

Bütün gruplarda [kontrol (K), tek kuersetin (TK), asesülfam potasyum (A), asesülfam potasyum+kuersetin (AK), sukraloz (S), sukraloz+kuersetin (SK)] tespit edilen toplam OTU (operational taxonomic unit) sayısı tablo 4.3.'te verilmiştir. En az OTU sayısı asesülfam verilen grupta, en fazla OTU sayısı ise kuersetin verilen grupta görülmüştür. Asesülfam potasyum ve Sukraloz verilen gruplarda azalmış olarak gözlenen OTU sayılarının, bu gruplara kuersetin eklendiğinde artış gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4.3).

**Tablo 4. 3.** Deney gruplarının toplam OTU (Operational taxonomic unit) sayıları

Grup	Toplam OTU sayısı
Kontrol	92
Kuersetin	99
Asesülfam potasyum	66
Asesülfam potasyum+kuersetin	93
Sukraloz	75
Sukraloz+kuersetin	87

Bütün deney gruplarına ait şube seviyesindeki mikrobiyota profili şekil 4.5'te verilmiştir. Ayrıca bu mikrobiyota bileşiminin sayısal olarak yüzdeleri tablo 4.4.'te verilmiştir. Bütün gruplarda hakim olan bakteri ailesi Firmicutes olarak tespit edilmiştir. Çok görülen diğer bakteri türleri ise Patescibacteria, Bacteroidota, Campilobacterota, Proteobacteria, Actinobacteriota şubelerine ait bakterilerdir.

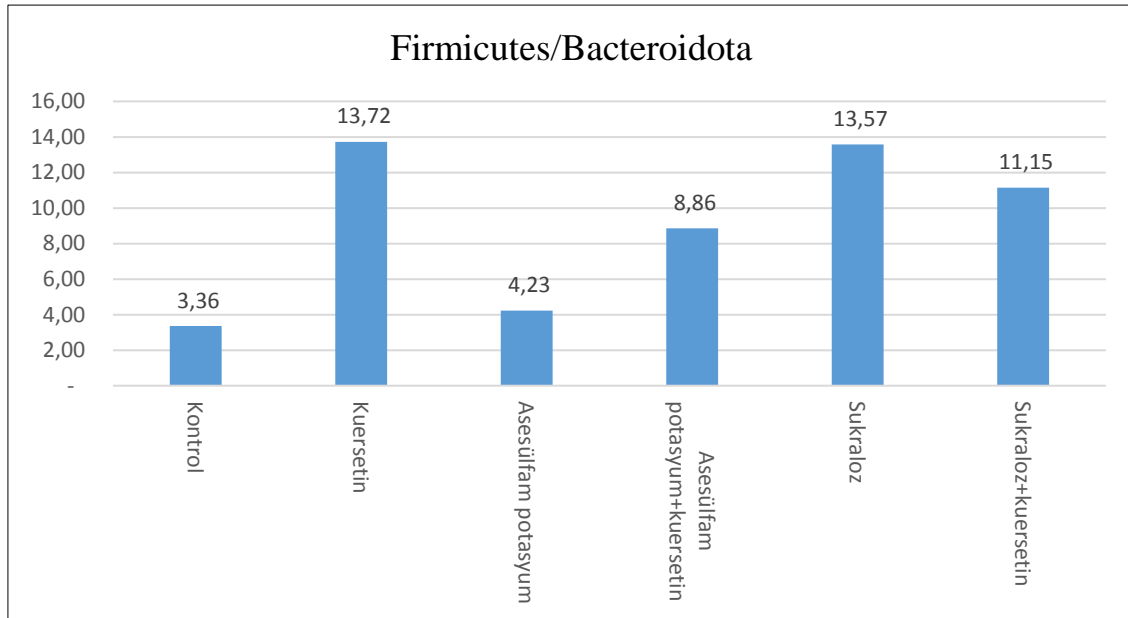


Şekil 4. 5. Deney gruplarının şubeye göre mikrobiyota profilleri

**Tablo 4. 4.** Deneş gruplarının Őbeye göre bakteri oranları

Grup	Firmicutes	Patascibacteria	Campilobacterota	Proteobacteria	Bacteroidota	Actinobacteriota	Diğer
Kontrol	42%	3%	5%	4%	12%	5%	29%
Kuersetin	56%	6%	3%	3%	4%	4%	24%
Asesülfam potasyum	59%	2%	3%	1%	14%	2%	21%
Asesülfam potasyum+Kuersetin	62%	5%	2%	1%	7%	1%	22%
Sukraloz	64%	1%	5%	2%	5%	3%	20%
Sukraloz+Kuersetin	64%	3%	2%	3%	6%	2%	20%

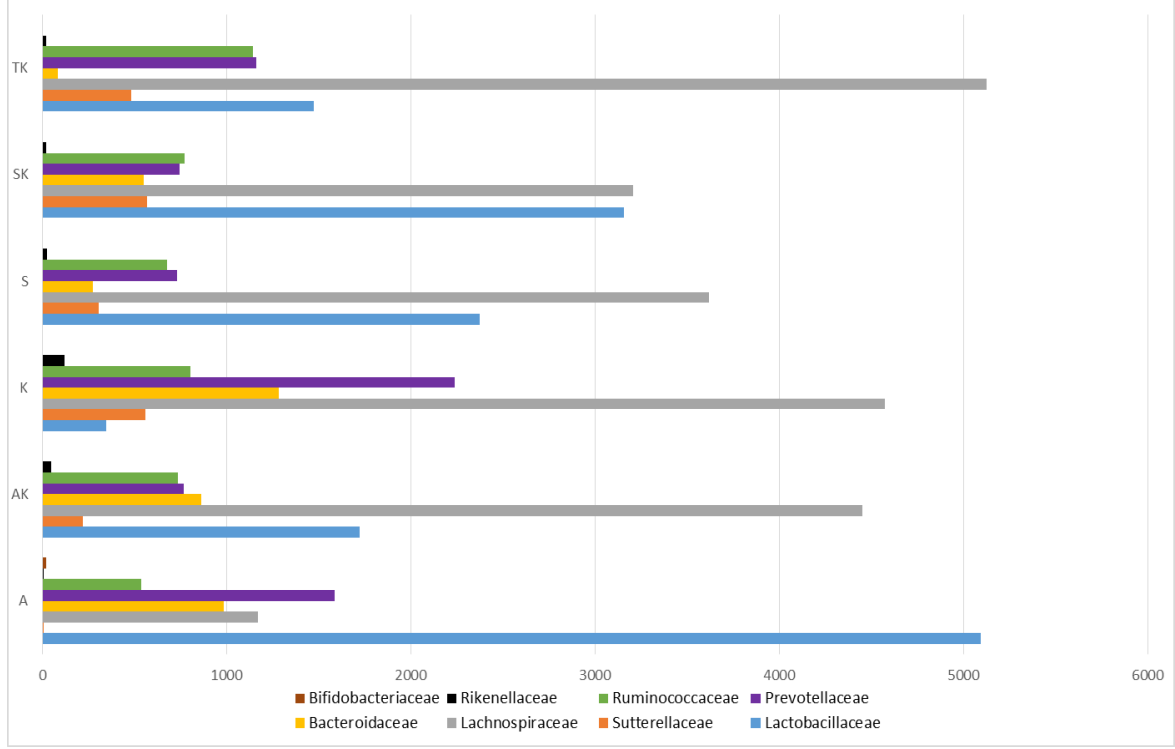
Deneş gruplarının Firmicutes / Bacteroidota (F/B) oranında kontrol ve diğer gruplar arasında farklılıklar oluşmuştur. Bu oranlar Şekil 4.6' da verilmiştir. Bu oranların kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Firmicutes / Bacteroidota (F/B) oranı en yüksek Kuersetin grubunda en dŐuk ise Kontrol grubunda grlmŐtur.



**Şekil 4. 6.** Deneş gruplarının Firmicutes / Bacteroidota oranı

Deneş gruplarının aile seviyesindeki mikrobiyota kompozisyonlarından bazıları Şekil 4.7.'de verilmiştir. Lactobacillaceae ailesine ait bakterilerin kontrol grubuna kıyasla en fazla asesülfam grubunda olmak üzere diğer gruplarda arttığı grlmŐtur. Lachnospiraceae ve Ruminococcaceae ailesine ait bakterilerin kontrol grubuna kıyasla kuersetin grubunda arttığı, diğer gruplarda genelde azaldığı grlmŐtur; en belirgin azalmanın gözlendiği asesülfam grubuna kuersetin eklenmesi bu azalmayı belli bir oranda etkileyerek kontrol grubuna yaklaŐtırmıŐtır. Bacteroidaceae ailesine ait bakteriler özellikle kuersetin grubunda bariz olarak azalmış, diğer gruplarda da azaldığı saptanmıştır. Prevotellaceae ve Rikenellaceae familyasına ait bakterilerin ise kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda azaldığı grlmŐtur. Sutterellecea

ailesi bakterileri asesülfam grubunda çok belirgin olmak üzere asesülfam ve sukraloz gruplarında azalmış, bu gruplara kuersetin eklenmesi bu değişimi bir dereceye kadar tersine çevirmiştir.



Şekil 4. 7. Deneş gruplarının aile seviyesindeki mikrobiyota çeşitliliği

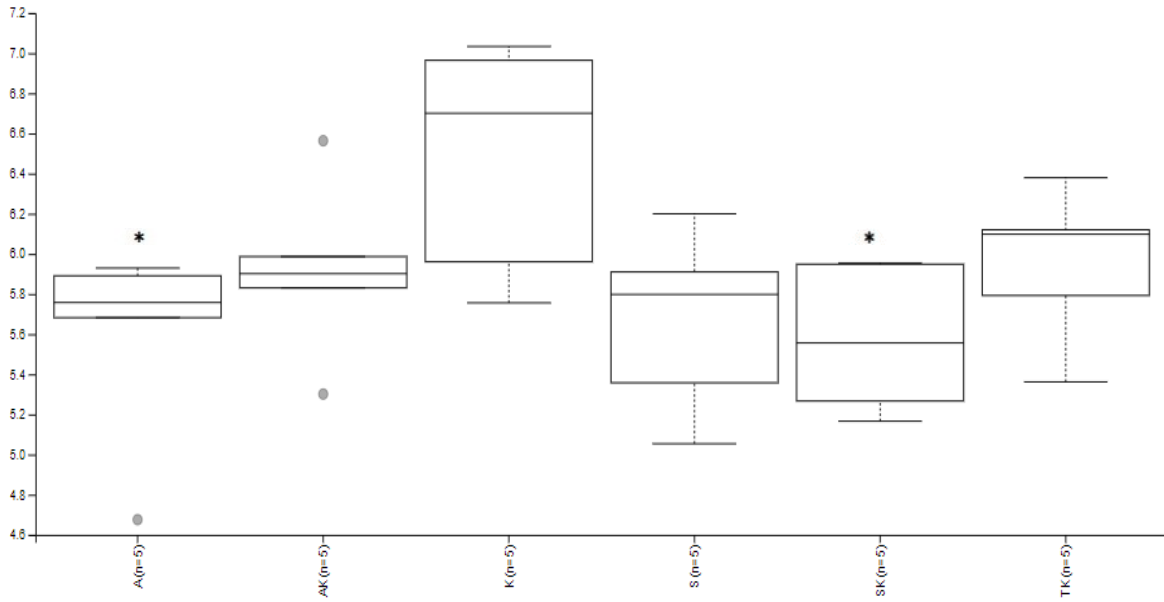
K: Kontrol      AK: Asesülfam K+kuersetin      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin

#### 4.3.1. Alfa çeşitlilik analizleri

Alfa çeşitliliği, çalışmada tür zenginliğini, yani örnekler içindeki genetik çeşitliliği belirlemek ve değerlendirmek için kullanılan bir ölçüdür. Çalışmamızda alfa çeşitliliği, Faith's Phylogenetic Diversity (Faith's PD), Shannon Entropi ve Pielou düzgünlüğü indeksleri ile belirlenmiştir.

#### *Shannon Entropy İndeksi*

Shannon indeksinin değeri ne kadar yüksekse mikrobiyota grubunun tür zenginliği o kadar yüksektir. Shannon indeksi değeri Şekil 4.8.'da gösterilmiştir ve en yüksek olan kontrol grubu (K) olarak analiz edilmiştir.



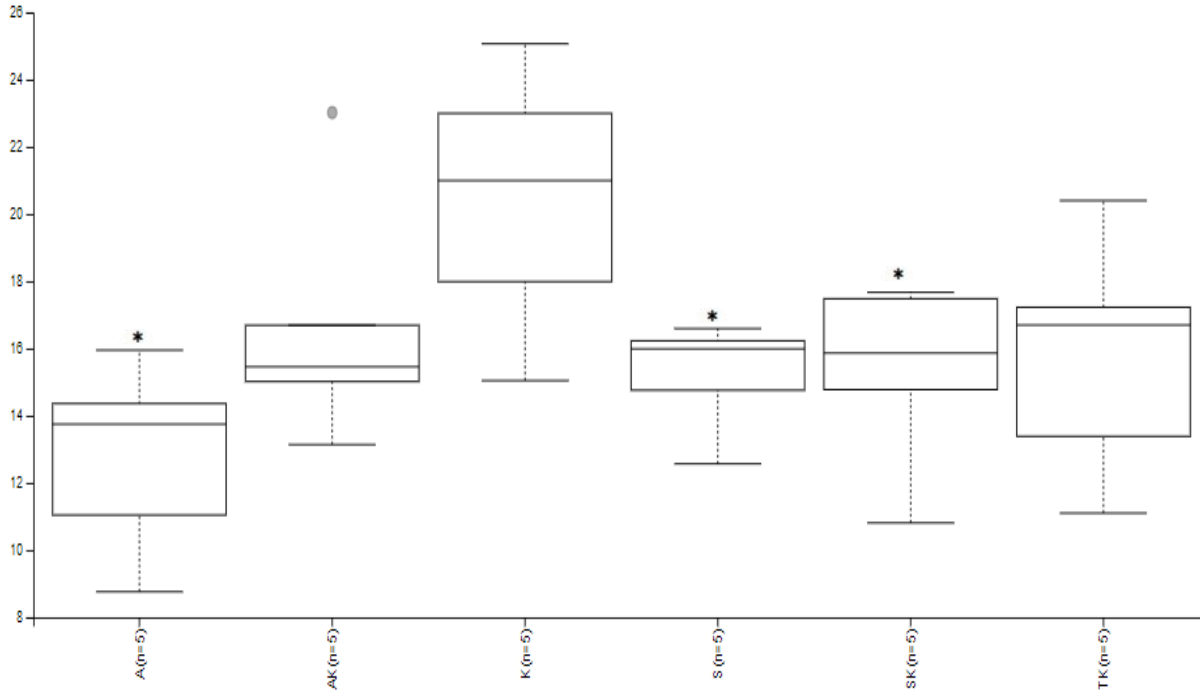
Şekil 4. 8. Deney gruplarının Shannon Entropy indeksine göre tür çeşitliliği \*:  $p < 0,05$

K: Kontrol      AK: Aseşülfam K+kuersetin      A: Aseşülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin

Aseşülfam (A) ( $p=0,047$ ) verilen grup ve Sukraloz+Kuersetin (SK) ( $p=0,028$ ) verilen grupta Kontrol grubuna kıyasla tür çeşitliliğinin azaldığı görülmüştür ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer gruplar arasında mikrobiyota çeşitliliği, Shannon Entropy indeksine göre belirgin bir farklılık göstermemiştir ( $p > 0.05$ ).

### ***Faith's PD (Phylogenetic Diversity) İndeksi***

Gruplar arasındaki tür zenginliğini belirlemek amacıyla Faith's PD (Filogenetik Çeşitliliği), her bir grupta isimlendirilen diziler (feature) arasındaki filogenetik ilişkileri içeren topluluk zenginliğinin nitel bir ölçüsü olarak değerlendirir. Faith's PD indeksine göre filogenetik çeşitliliği Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.

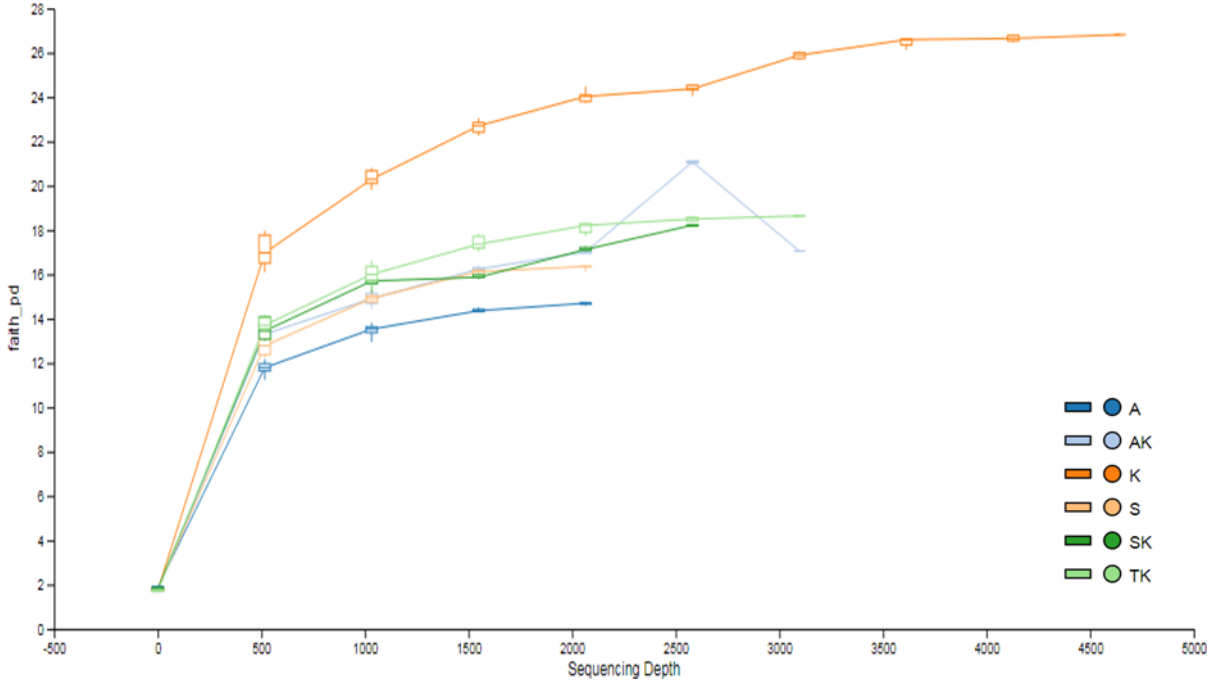


**Şekil 4. 9.**Deney gruplarının Faith's PD indeksine göre filogenetik çeşitliliği \*:  $p < 0,05$

K: Kontrol      AK: Asesülfam K+kuersetin      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin

Asesülfam (A) ( $p=0,016$ ), Sukraloz (S) ( $p=0,047$ ) ve Sukraloz+Kuersetin (SK) ( $p=0,047$ ) verilen gruplarda tür zenginliği azalmıştır. En fazla tür zenginliği ise Kontrol grubunda görülmüştür. Asesülfam (A), Sukraloz (S) ve Sukraloz+Kuersetin (SK) grubundaki bu azalış Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer gruplar arasında mikrobiyota çeşitlilik yapısı Faith's PD indeksine göre belirgin bir farklılık göstermemiştir ( $p > 0,05$ ).

Farklı renklerle sembolize edilmiş grupların Faith's PD indeksine göre Alfa Seyreltme (Rarefaction) analizi yapılmıştır (Şekil 4.10.). Analiz grafiği, dizileme derinliğine paralel devam eden gruplarda grup içi çeşitliliği en yüksek olanın Kontrol (K) grubu, dizileme derinliğine en az paralel devam eden hattın ise grup içi çeşitliliği en düşük Asesülfam (A) grubu olduğunu göstermektedir. Genelde kontrol grubuna göre diğer tüm grupların dizileme derinliğine paralelliği azalmıştır.

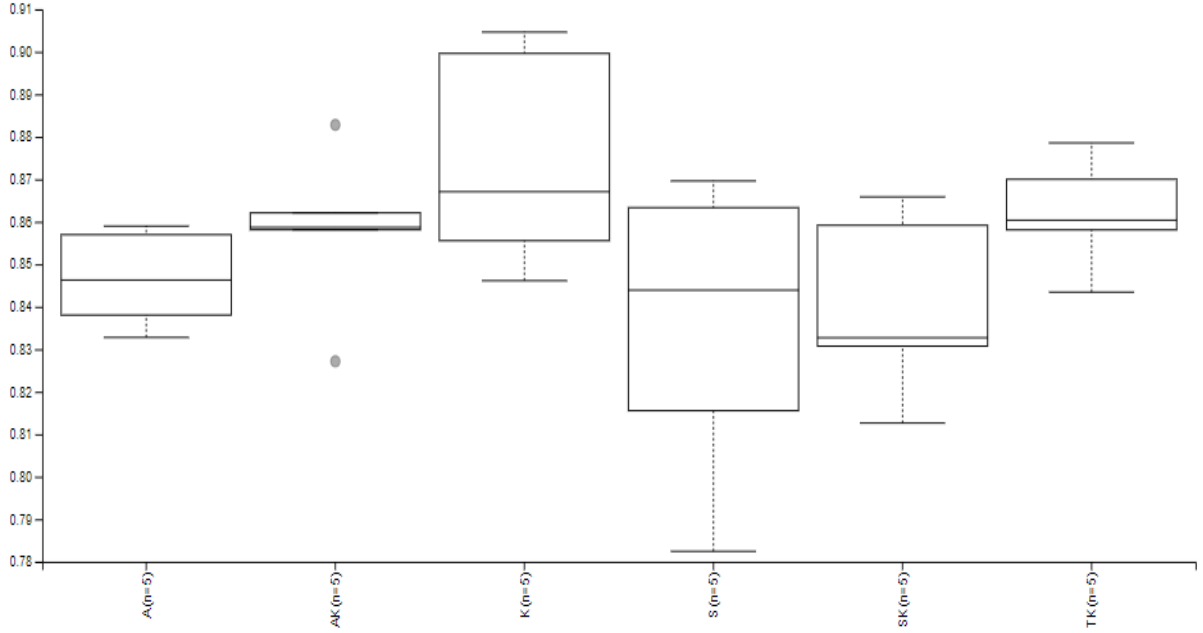


Şekil 4. 10. Faith's PD indeksine göre Alfa Seyreltme (Rarefaction) Analizi

K: Kontrol      AK: Asesülfam K+kuersetin      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin

### ***Pielou'nun düzgünlüğü (Pielou Evenness)***

Pielou'nun düzgünlüğü (Pielou Evenness), tür zenginliği ile birlikte çeşitliliği ölçen bir indekstir. Tür zenginliği, belirli bir alandaki farklı türlerin sayısı iken, düzgünlük ise bir alandaki her türün birey sayısıdır. Pielou'nun düzgünlüğü indeksine göre 0'a yaklaşan değerler düzgünlüğün azaldığını, 1'e yaklaşan değerler ise düzgünlüğün arttığını ifade eder. Buna göre kontrol grubunda mevcut türlere ait daha eşit sayıda birey bulunmaktadır. Ancak gruplar arasında ( $p>0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Deney gruplarının Pielou düzgünlüğü indeksi Şekil 4.11'de verilmiştir.



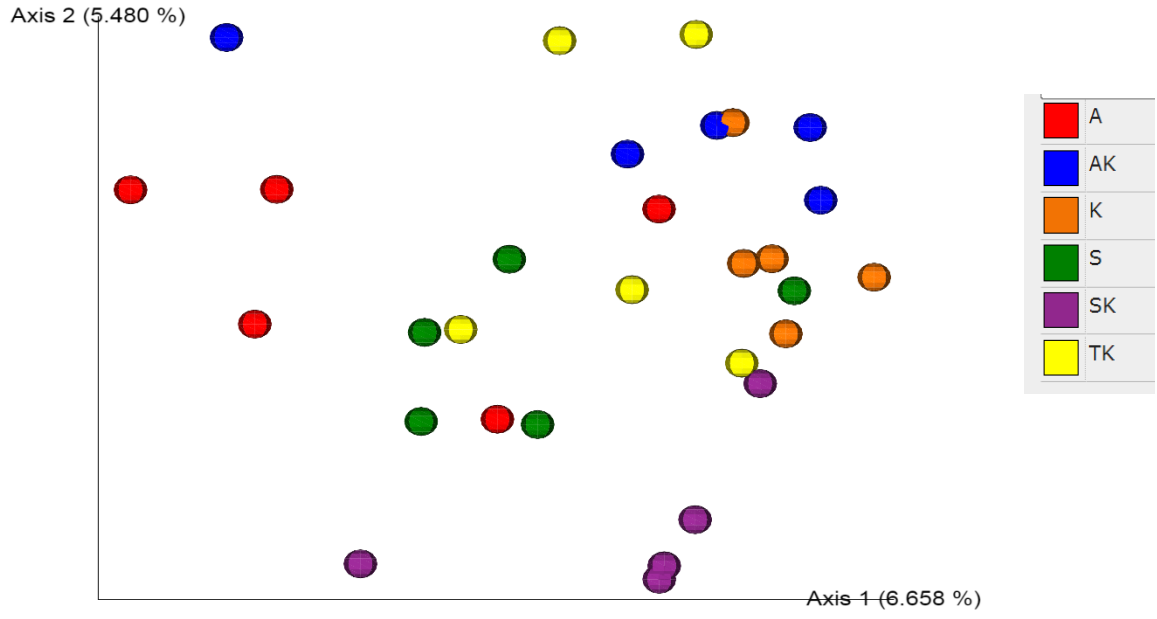
Şekil 4. 11. Deneç Grularının Pielou düzgünlüğü indeksine göre gösterimi

K: Kontrol      AK: Asesülfam K+kuersetin      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin

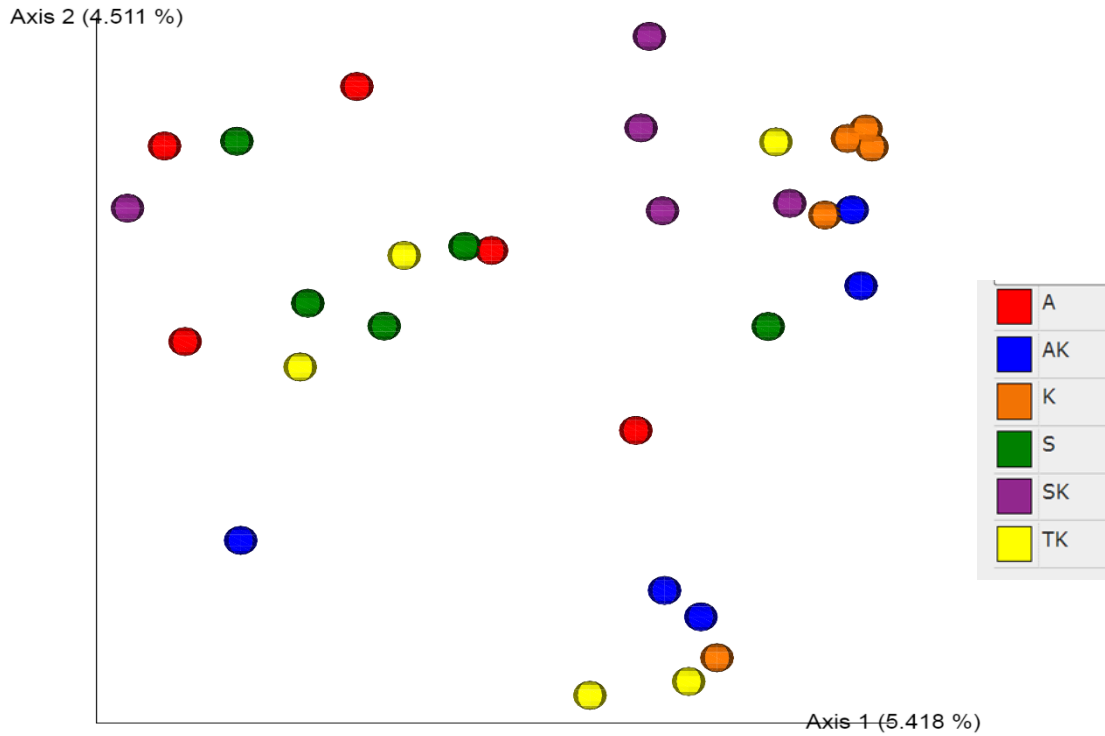
#### 4.3.2. Beta çeşitlilik analizleri

Beta çeşitliliği, örnekler arasındaki tür çeşitliliğini ve bolluğunu karşılaştırmak için kullanılan bir ölçüdür. Dizilenen gruplar (K-TK-A-AK-S-SK) arasındaki mikrobiyal farklılıkları daha iyi araştırmak için beta çeşitlilik ölçümleri hesaplanıp grafikler oluşturulmuştur. Bray-Curtis PCoA (principal coordinate analysis- temel koordinatlar analizi) analiz grafiği Şekil 4.12.'de verilmiştir. Bu analizde, gruplar içerisinde belirlenen tür sayılarının toplam tür sayısı ile oranlanması sonucunda grupların benzerlikleri belirlenmektedir. Jaccard PCoA çeşitlilik indeksi ise Şekil 4. 13.'te verilmiştir. Jaccard çeşitlilik indeksi, iki grup arasındaki benzerlik ölçümüdür.

Gruplardan alınan örneklerin bakteri topluluğunun, başka gruplarla olan farklılıkları Jaccard çeşitlilik indeksi sonuçları Permanova testi kullanılarak beta çeşitliliği karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir. Karşılaştırma sonucunda Kontrol (K) grubuna kıyasla, tek kuersetin (TK) ve asesülfam potasyum (A) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ ) oluşmuştur. Ayrıca asesülfam potasyum (A) grubuna kıyasla kontrol grubunun yanısıra tek kuersetin (TK) ve asesülfam potasyum+kuersetin (AK) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ ) gözlenmiştir. Diğer grupların beta çeşitliliği ikili karşılaştırmalarında anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p > 0,05$ ).



Şekil 4. 12. Bray-Curtis PCoA analizinin gösterimi



Şekil 4. 13. Jaccard PCoA analizinin gösterimi

K: Kontrol      AK: Asesülfam K+kuersetin      A: Asesülfam potasyum  
S: Sukraloz      TK: Kuersetin      SK: Sukraloz+kuersetin



## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, yapay tatlandırıcılara maruziyetin ratlarda bağırsak mikrobiyotası ve glisemi düzeyine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, önemli polifenollerden biri olan kuersetin takviyesinin tek başına veya tatlandırıcılarla kombine kullanımının mikrobiyota üzerindeki modülatör etkileri ve buna bağlı olarak glisemi düzeyine olan etkisi incelenmiştir. Gruplar arasında mikrobiyal çeşitlilik ve kompozisyonunda farklılıklar tespit edilmiştir. Deney süresince tüm grupların kan glukoz seviyelerinde her 3 ortalama değer açısından kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir. Deney gruplarının kan glukoz seviyesinde deney sürecinde grupların kendi içinde Asesülfam K grubunun bir ortalamasında düşme, Sukraloz+kuersetin grubunun ise bir ortalamasında yükselme şeklinde sınırlı değişimler olmuştur; ancak bu değişimler başlangıç ve son değerler (3. ortalama) arasında anlamlı değildir. Ayrıca 42 günlük çalışma süresinde bütün gruplarda ölçülen ağırlıkta büyümeye bağlı artış gözlenirse de, kontrol grubuna kıyasla ve tüm grupların birbiri ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda kullanılan sukraloz, asesülfam K ve kuersetinin sonuçları alt başlıklar halinde değerlendirilmiştir.

### 5.1. Sukralozun Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda 42 gün boyunca 11 mg/kg/gün'den sukraloz verilen Sukraloz (S) ve Sukraloz+kuersetin (SK) gruplarında beta çeşitlilik analizlerinde anlamlı farklılık oluşmamıştır. Alfa çeşitlilik analizlerinde Sukraloz (S) ve Sukraloz+kuersetin (SK) gruplarında Faith's PD İndeksine göre tür zenginliğinin azaldığı görülmüştür. Shannon Entropy İndeksine göre ise, alfa çeşitliliğin Sukraloz+Kuersetin (SK) verilen grupta Kontrol grubuna kıyasla azaldığı görülmüştür. Ahmad ve arkadaşlarının 14 gün boyunca sağlıklı yetişkinlerde (136 mg/gün) sukraloz tüketiminde beta çeşitlilikte anlamlı farklılıklar oluşmuş, ancak alfa çeşitlilik azalmış olsa da anlamlı bulunmamıştır. Sukraloz tüketimine bağlı olarak Firmicutesin arttığı görülmüştür (Ahmad ve ark., 2020). Bu sonuçlar beta çeşitlilikteki değişimler hariç bizim çalışmamızla benzer olmakla birlikte, çalışmamızda Bacteroidota bolluğu azalmış, Ahmad ve arkadaşlarının çalışmasında artmış olduğu görülmüştür.

Hosseini ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada aspartam hariç günlük kalorisiz diğer yapay tatlandırıcı kullanımını bildiren 35 bireyin dışkı mikrobiyotası incelenmiştir. Kontrol

grubu ile kıyaslandığında alfa ve beta çeşitliliğinin değişmediği görülmüştür. 35 bireyin mikrobiyota profillerinde ise bizim sonuçlarımızla uyumlu şekilde Firmicutesin arttığı, Bacteroidotanın ise azaldığı görülmüştür (Hosseini ve ark., 2023).

Abou-Donia ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı çalışmada (1,1-11 mg/kg/gün) 12 haftalık sukraloz tüketimi sonunda bifidobakteri, laktobasil, bacteroides bakteri sayılarında anlamlı azalma görülmüştür. Bizim çalışmamızın sonuçlarında ise sukraloz verdiğimiz grupta kontrol grubuna kıyasla bacteroides sayılarının azaldığı bifidobakteri düzeylerinin değişmediği, laktobasil sayısının arttığı görülmüştür (Abou-Donia ve ark., 2008).

Uebanso ve arkadaşlarının 15 mg/kg/gün dozunda 8 hafta sukraloza maruz bıraktığı farelerde kontrol grubuna kıyasla bağırsak mikrobiyotasında ve vücut ağırlığında anlamlı bir değişiklik olmamış sadece sukraloz verilen grupta Clostridium XIVa'nın azaldığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da vücut ağırlığında gruplar arasında anlamlı değişim olmamış, ayrıca Clostridium XIVa türünün bağlı olduğu Lachnospiraceae familyasındaki bakterilerin kontrol grubuna kıyasla azaldığı gözlenmiştir (Uebanso ve ark., 2017).

Suez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 120 sağlıklı yetişkin kabul edilebilir günlük alım miktarından daha düşük dozlarda 2 hafta boyunca sakkarin, sukraloz, aspartam ve stevia tüketmiştir. Sağlıklı yetişkinlerin kalorisiz tatlandırıcı sonrasında dışkı mikrobiyotası ve glisemik değerleri analiz edilip değerlendirilmiştir. Tüm uygulanan tatlandırıcıların insanların bağırsak mikrobiyotasında belirgin değişiklik yaptığı görülürken, sakkarin ve sukraloz alan grupların glisemik tepkilerinin de bozulduğu tespit edilmiştir. Suez ve arkadaşları, bu çalışmada yapay tatlandırıcılardan kaynaklanan bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin Tip 2 Diyabet etiolojisinde rol oynayabileceğini öne sürmüştür (Suez ve ark., 2022).

Méndez-García ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 48 mg/gün sukraloz tüketimi Actinobacteria veya Bacteroidetes'i değiştirmeden Firmicutesin miktarını arttırmıştır. Ayrıca çalışmada sukraloz tüketiminin bağırsak disbiyozisi ile ilişkili insülin homeostazını olumsuz etkilediği görülmüştür (Méndez-García ve ark.,2022).

Li ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada altı hafta boyunca içme suyunda (1,5 mg/ml) sukraloz alımı, Clostridium symbiosum ve Peptostreptococcus anaerobius gibi Firmicutes filumuna ait bakterilerin miktarını arttırırken, proinflamatuvar faktörlerin seviyelerinde de artış gözlenmiştir (Li ve ark., 2020).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sukraloz ve asesülfam potasyum in vitro ortamda *Escherichia coli* üzerinde bakteriyostatik etki göstermiştir. Çalışmanın devamında sukraloz 8 hafta boyunca farelere verilmiş, bağırsak mikrobiyotasında alfa çeşitlilikte *Actinobacteria* ve *Proteobacteria*'da anlamlı değişiklik olmamasına rağmen, *Firmicutes* miktarında artış gözlemlendiği görülmüştür. Ayrıca sukraloz, kontrol grubuna kıyasla farelerin vücut ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır (Wang ve ark., 2018).

Bahsedilen çalışmalardaki sukraloz maruziyetinde *Firmicutes* filumunda görülen artış çalışmamızdaki sonuçlara benzerlik göstermektedir; ancak vücut ağırlığı artışı ve açlık kan glukozu seviyeleri kontrol grubuna göre deney gruplarımız arasında anlamlı değişiklik göstermemiştir.

## **5.2. Asesülfam K'nın Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi**

Çalışmamızda asesülfam potasyumun 42 gün boyunca 37,5 mg/kg/gün' den verildiği Asesülfam K (A) grubunun alfa çeşitlilik indekslerinde tür çeşitliliğinin azaldığı, beta çeşitlilikte ise Kontrol, Kuersetin ve Asesülfam potasyum+kuersetin grubuna kıyasla farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Toplam OTU sayısının ise kontrol grubuna kıyasla azaldığı görülmüş; açlık kan glukozu seviyelerinde ve ağırlık artışında kontrol grubuna kıyasla anlamlı değişim görülmemiştir.

Bian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 37,5 mg/kg/gün dozunda asesülfam potasyum dört hafta boyunca farelere uygulanmıştır. Çalışma sonucunda asesülfam K verilen erkek farelerde kontrol grubuna kıyasla bağırsak mikrobiyotasında *Bacteroides* ve *Sutterella* yüksek oranda artarken, dişi farelerde kontrol grubuna kıyasla *Lactobacillus* ve *Ruminococcaceae* önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca erkek farelerde vücut ağırlığının artışına neden olmuştur; dişi farelerde bu artış gözlenmemiştir. Aynı zamanda çalışmada kronik inflamasyonla ilişkili olan genlerin artışı gözlenmiş ve sonuçta metabolik sendrom açısından risk oluşturabileceği düşünülmüştür (Bian ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda asesülfam ve asesülfam+kuersetin verdiğimiz iki grupta da kontrol grubuna kıyasla *Sutterella*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroides*'in azaldığı, *Lactobacillaceae* ailesine ait bakterilerin ise arttığı görülmüştür.

Hanawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada asesülfam potasyum (150mg/kg/gün) erkek farelere 8 hafta boyunca verilmiştir. Çalışmanın sonucunda bağırsak mikrobiyotasında *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae*'nın azaldığı, bağırsak hasarının olduğu ve

proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür. Bağırsak mikrobiyotasındaki sonuçlar çalışmamız ile tutarlı bulunmuştur (Hanawa ve ark., 2021).

Olivier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada günlük kabul edilebilir alım miktarı veya iki katı kadar 6 hafta boyunca farelere sukraloz ve asesülfam potasyum birlikte verilmiştir. Yavruların bağırsak mikrobiyotasında Firmicutesin arttığı, Akkermansia muciniphilanın ise azaldığı görülmüştür. Yavru farelerde Firmicutes/Bacteroidota oranının ve Firmicutese bağlı alfa çeşitliliğin arttığı ayrıca beta çeşitliliğin farklılaştığı görülmüştür. Yavru farelerin ağırlığının ve açlık kan şekerlerinin kontrol grubu yavrulara göre düşük olduğu görülmüştür (Olivier ve ark. 2019). Bizim çalışmamızda Asesülfam potasyum verilen grupta Firmicutesin arttığı, alfa çeşitliliğin azaldığı, beta çeşitliliğin farklılaştığı ve açlık glukoz seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla değişmediği gözlenmiştir.

Frankenfeld ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada aspartam ve asesülfam K tüketen bireylerin dışkı mikrobiyotasında bakteri sınıf ve bolluğu açısından dikkate değer bir değişim olmadığı gösterilmiştir. Bireylerin vücut kitle indeksinde tatlandırıcı kullananlar ve kullanmayanlar arasında farklılık gözlenmemiştir (Frankenfeld ve ark. 2015). Uebanso ve arkadaşlarının 15 mg/kg/gün dozunda 8 hafta asesülfam potasyuma maruz bıraktığı farelerde kontrol grubuna kıyasla bağırsak mikrobiyotasında ve vücut ağırlığında anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Uebanso ve ark., 2017). Murali ve arkadaşlarının 28 gün boyunca asesülfam potasyum verdiği (40 ve 120 mg/kg vücut ağırlığı) ratların dışkı mikrobiyota profilinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Murali ve ark., 2022). Tsan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlar asesülfam potasyuma (15 mg/kg/gün) 7 hafta boyunca maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda glukoz tolerans testi ve bağırsak mikrobiyotasında anlamlı bir etki görülmemiştir (Tsan ve ark., 2022).

Ragi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fareler asesülfam potasyum veya sakkaroz maruz bırakılmıştır. Asesülfam potasyuma maruz kalan farelerde vücut ağırlığı artışı görülmüş olup, kan şekeri ve insülin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla değişmediği görülmüştür (Ragi ve ark., 2021).

Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızda asesülfam K'a maruz kalan grubun mikrobiyotasında alfa çeşitliliği azalmış ve beta çeşitlilikte kontrol grubuna kıyasla önemli farklılıklar görülmüştür. Vücut ağırlığı artışı ve açlık glukoz düzeylerinde kontrol grubu ve diğer gruplara göre anlamlı değişim gözlenmemiştir.

### 5.3. Kuersetinin Kan Glukoz Seviyesi ve Mikrobiyota Üzerindeki Etkilerinin

#### Değerlendirilmesi

Çalışmamızda 3 grubumuza [Kuersetin (TK), Asesülfam potasyum+Kuersetin (AK), Sukraloz+Kuersetin (SK) olmak üzere] 30 mg/kg kuersetin verilmiştir. Sukraloz (S) ve Asesülfam potasyum (A) gruplarının yanısıra, Sukraloz+Kuersetin (SK) grubunun da Kontrol grubuna kıyasla alfa çeşitlilik analizlerinde tür çeşitliliği azalmıştır. Çalışmamızda kuersetin, asesülfam potasyum ile verildiğinde asesülfamın oluşturduğu alfa çeşitliliğindeki azalmayı önemli ölçüde geri döndürmüş, ancak sukralozda bu etki gözlenmemiştir. Sadece Kuersetin (TK) verilen grupta alfa çeşitliliği azalmakla birlikte, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Beta çeşitlilik analizlerinde Kuersetin (TK) grubuna kıyasla Kontrol (K) ve Asesülfam potasyum (A) grupları arasında; ayrıca Asesülfam potasyum (A) grubuna kıyasla Asesülfam potasyum+kuersetin (AK) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir. Kuersetin takviyesi açlık kan glukoz seviyelerinde ve vücut ağırlığındaki artışta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır.

Ju ve arkadaşlarının deneysel kolit modelinde 10 mg/kg/gün kuersetin takviyesinin farelerde Bacteroidetes/Firmicutes oranını artırdığı, Proteobakterilerin ve Aktinobakterilerin azaldığı görülmüştür (Ju ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda kuersetin verdiğimiz tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla Bacteroidetes/Firmicutes oranınının, Proteobakterilerin ve Aktinobakterilerin azaldığı saptanmıştır.

Sarkar ve arkadaşlarının çalışmasında kuersetinin antibiyotik tedavisi nedeniyle azalan Lactobacillus ve Firmicutes filumuna ait bakterileri çalışmamızdaki sonuçlarla benzer şekilde artırdığı görülmüştür. Ayrıca Kuersetinin farelerde antibiyotikle ilişkili bağırsak disbiyozunu etkili bir şekilde iyileştirdiği; oksidatif stresi, proinflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri azalttığı gözlenmiştir (Sarkar ve ark., 2022).

Dong ve arkadaşları piliçlerde deneysel oksidatif hasarda kuersetin takviyesinin bağırsak mikrobiyotasına etkisini incelemiştir. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde kuersetin alfa çeşitliliğinde ve filum düzeyinde anlamlı değişiklik oluşturmamasına rağmen beta çeşitlilikte farklılık ve Lactobacillaceae ailesine ait bakterilerde artışa yol açmıştır (Dong ve ark., 2021).

Shi ve arkadaşlarının farelerde yaptığı bir çalışmada, antibiyotik ile başarılı bir şekilde indüklenen bağırsak disbiyozu sonucu kuersetinin, *Bacteroides* ve *Lactobacillus* popülasyonlarını teşvik ederek bağırsak mikrobiyotasını önemli ölçüde iyileştirildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada kuersetinin bağırsak villusunun uzunluğu, mukozal kalınlığı ve dışkıda bütirat üretimini önemli ölçüde artırdığı görülmüştür. Kuersetinin bağırsak disbiyozuna karşı olan mücadelede prebiyotik olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (Shi ve ark., 2020).

*Etхеberria* ve arkadaşlarının ratlarda resveratrol ve kuersetin uygulamasının yüksek yağlı sakkaroz diyeti tarafından oluşturulan bağırsak mikrobiyota disbiyozunu önleyip önleyemeyeceğini belirlemek amaçlı yaptığı çalışmada, tek olarak kuersetin takviyesinin, Firmicutes/*Bacteroidetes* oranını azalttığı görülmüştür. Ayrıca her iki polifenolün birlikte uygulanması vücut ağırlığı artışını önlemiş ve serum insülin düzeylerini düşürdüğü görülmüştür (*Etхеberria* ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada farelerde 16 hafta boyunca kuersetin takviyesinin kontrol grubuna kıyasla *Bacteroidetes* önemli ölçüde artırdığı, ancak Firmicutes filumunda değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiştir. Firmicutes/*Bacteroidetes* oranının kontrol grubuna göre kuersetin grubunda azaldığı görülmüştür (Porras ve ark., 2017).

Bu çalışmalardaki sonuçlarla karşılaştırıldığında, çalışmamızda kuersetin takviyesinin *Lactobacillus* artırırken *Bacteroides* azalttığı; Firmicutes/*Bacteroidetes* oranını ise artırdığı saptanmıştır.

Lan ve arkadaşları ratlarda 28 gün boyunca 100 mg/kg/gün'den verilen kuersetinin kontrol grubuna kıyasla alfa çeşitliliğini ve Ruminococcaceae ailesine ait bakteri türlerini azalttığını, *Lactobacillus* ise artırdığını gözlemlemiştir (Lan ve ark., 2021). Çalışmamızda kuersetin alan grupların kontrol grubuna göre alfa çeşitliliğinin azaldığı ama sadece Sukraloz+Kuersetin grubunda anlamlı azalma olduğu görülmüştür, ayrıca Ruminococcaceae ve *Lactobacillus*'un arttığı görülmüştür.

Nie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen farelere 100 µg/gün'den 4 hafta boyunca kuersetin verilen farelerin kontrol grubuna kıyasla bağırsak alfa mikrobiyota çeşitliliğinin, Actinobacteria ve *Bacteroidetes* miktarının arttığı, Firmicutesin ise azaldığı görülmüştür. Kuersetin tedavisi vücut ağırlığı artışını baskılamıştır (Nie ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda ise Actinobacteria yoğunluğu azalırken Firmicutes miktarı artmıştır.

Yang ve arkadaşlarının diyabetik sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada kuersetinin kan şekeri seviyelerini düşürdüğü, oksidatif stres hasarını azalttığı görülmüştür (Yang ve ark., 2018).

Klinik bir çalışmada hiperürisemisi olan erkek bireylerin 4 hafta boyunca günde 500 mg kuersetin tüketimi, vücut kitle indeksinde ve açlık kan şekeri üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır (Shi ve Williamson, 2016). Ayrıca, diyabetik erkek hastalarda Quercetin Phytosome isimli beşeri ürün (20 gün boyunca 200 mg/gün) tüketimi HbA1c ve açlık kan şekeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermemiştir (Riva ve ark., 2018).

Khorshidi ve arkadaşlarının polikistik over sendromlu bireylere 12 hafta boyunca günde 1000 mg kuersetin verdiği bir çalışmada, açlık kan şekeri, insülin ve insülin direncinin plasebo grubuyla karşılaştırılması sonucu anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Khorshidi ve ark., 2018). Başka bir çalışmada ise, kuersetinin 12 hafta boyunca ağızdan günde 1 g alındığında polikistik overli kadınlarda insülin direncinde iyileşmeye yol açtığı bildirilmiştir (Rezvan ve ark., 2017).

Mazloom ve arkadaşları, DM hastalarına, 8 hafta 250 mg/gün kuersetin vermiştir. Plasebo grubu ile karşılaştırıldığında kuersetinin antioksidan kapasitesiteyi artırdığı, ancak HbA1c, açlık kan şekeri ve insülin düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür (Mazloom ve ark., 2014).

Yapay tatlandırıcı kullanımı ile bağırsak mikrobiyotasında ve glisemi düzeylerinde oluşabilecek potansiyel etkiyi regüle etme düşüncesi ile antioksidan ve prebiyotik veren yeterli çalışma bulunmamaktadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 6.1. Sonuç

Sukraloz ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasına ve glisemi düzeyi üzerine hiç etkisi olmadığına dair sonuçlar (Ahmad ve ark., 2020; Thomson ve ark., 2019) bildirilirken, sukralozun glukoz metabolizması üzerindeki etkisini bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerle ilişkilendiren çalışmalar da mevcuttur. Bunun da esas olarak Firmicutes filumuna ait bakterilerin miktarının artmasıyla ilgili olduğu çalışmalarda doğrulanmıştır. (Romo-Romo ve ark., 2018; Bueno-hernández ve ark., 2020). Çalışmamızda GKEAM'ı yaklaşık iki katı kadar dozda, 42 günlük sukraloz maruziyeti kontrol grubuna göre glisemi düzeyine, vücut ağırlıklarındaki değişime ve beta çeşitlilik üzerine anlamlı etkiler oluşturmamasına rağmen, alfa çeşitliliğinin azaldığı; Firmicutes filumunun da arttığı kaydedilmiştir. Sukraloz verilen gruplarımızda vücut ağırlıklarında zaman içinde büyümeye bağlı artış kaydedilse de kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık oluşmamıştır.

Asesülfam potasyum ile ilgili yapılan çalışmalarda genelde GKEAM (0-15 mg/kg/gün) dozunda verildiğinde bağırsak mikrobiyotası içeriğinde ve glukoz metabolizmasında belirgin değişiklikler görülmemiştir (Tsan ve ark., 2022; Ragi ve ark., 2021). Daha yüksek dozlarda yapılan çalışmalarda ise mikrobiyota bileşiminin değiştiği çalışmaların yanında, etkilenmediği çalışmalar da mevcuttur (Hanawa ve ark., 2021; Murali ve ark., 2022). Ayrıca asesülfam potasyumun bağırsak mikrobiyotasına bağlı olarak glukoz metabolizmasına etkilerini inceleyen yeterli çalışma mevcut değildir. Bizim çalışmamızda önerilen GKEAM'nın yaklaşık iki katı kullanılmıştır ve kontrol grubuna kıyasla bağırsak mikrobiyotasının anlamlı olarak etkilendiği, alfa çeşitliliğinin azaldığı, beta çeşitliliğin farklılaştığı görülmüştür. Ayrıca Asesülfam verilen gruplarımızda açlık kan şekeri düzeylerinde ve vücut ağırlıklarının zaman içindeki değişiminde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşmamıştır.

Kuersetin, antioksidan savunma sistemi ile oksidatif stres arasındaki dengeyi etkileyebilen bir flavonoiddir. Çeşitli çalışmalarda kuersetinin glukoz metabolizması ile bağırsak mikrobiyotasını modüle etmede ve metabolik sendromları engellemede etkili bir antioksidan olduğu yönünde sonuçlar olsa da, çevresel faktörler, beşeri kullanımındaki formüller, diyet alımındaki konsantrasyonlarının değişmesi etkinliği hakkında çelişkili sonuçlara yol açabilir. Çalışmamızda Kuersetin Lipozone Lipozomal Quercetin 125mg Kapsül kullanılmıştır. Kuersetin verilen gruplarımızda açlık kan glukoz seviyelerinde ve vücut ağırlıklarında zaman içinde görülen değişimde kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık

oluşmamıştır. Çalışmamızın sonucunda kuersetinin, hem tek başına verildiğinde hem de Asesülfam K+kuersetin ve Sukraloz+kuersetin verdiğimiz gruplarda toplam OTU sayısını artırması; ayrıca Asesülfam K+kuersetin grubunda alfa çeşitliliğin Asesülfam grubuna göre artması yönünde olumlu sonuçları olsa da, kuersetin verilen tüm gruplarımızda Firmicutes filumunun arttığı gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda Firmicutesin artışı yağ kütlesi kazanımı, DM ve inflamatuvar barsak sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Plaza-Diaz ve ark., 2020). Beta çeşitlilik analizlerinde ise Tek Kuersetin verilen grup, Kontrol ve Asesülfam K grubuna kıyasla anlamlı farklılıklar oluşturmuştur. Ayrıca Asesülfam K grubu ile Asesülfam K+kuersetin grubu arasında beta çeşitlilikte anlamlı fark bulunmuştur.

Literatürdeki çalışmalarda genelde kuersetin verilen deney gruplarına öncesinde yüksek yağlı diyet maruziyeti, deneysel oksidatif hasar, antibiyotik ile disbiyoz gibi deneysel koşullar oluşturulup, kuersetinin etkinliği değerlendirilmiştir (Nie ve ark., 2019; Dong ve ark.,2021; Shi ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda ise böyle bir müdahalede bulunulmamış; sağlıklı ratlarda tek başına veya güvenilir gıda katkı maddesi olarak kullanılan asesülfam K ve sukraloz ile birlikte verilmiştir. Çalışmamızı diğer çalışmalardan ayıran özellik ise yapay tatlandırıcı kullanımı sonucu bağırsak mikrobiyotasında ve glisemi düzeylerinde oluşabilecek potansiyel etkiyi regüle etme düşüncesi ile kuersetin uygulanmasıdır.

Sonuç olarak, yapay tatlandırıcılardan asesülfam K ve sukraloza maruziyetin ve diyetle kuersetin takviyesinin tek başına veya tatlandırıcılarla kombine kullanımının araştırıldığı bu çalışmada, kontrol grubuna göre glisemi düzeylerinde anlamlı değişim olmamakla birlikte, gruplar arasında bağırsak mikrobiyotası çeşitlilik ve kompozisyonunda farklılıklar tespit edilmiştir. Daha uzun süreli maruziyetin glukoz metabolizması ve bağırsak mikrobiyotası üzerinde değişiklik oluşturma potansiyeli açısından yapılacak ayrıntılı çalışmalar etkilerin netleşmesini ve mikrobiyota profilindeki değişimlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

## 6.2. Öneriler

Yapay tatlandırıcılar, kontrollü kalori tüketimi sağlamak, metabolik sendromun ve eşlik eden hastalıkların komplikasyonlarını azaltmak için sukroza alternatif olarak kullanılan gıda katkı maddeleridir. FDA ve JECFA tarafından GKEAM'ı belirlenerek kullanımı güvenli kabul edilmiştir. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) ise aspartamı insanlar için kanserojen olarak sınıflandırmıştır. Ayrıca Kanada, İsrail ve Avrupa Birliği tatlandırıcıların genel olarak azaltılmasını tavsiye etmiştir (Harrington ve ark., 2022). Amerikan Kalp Derneği kronik kullanımının etkilerinin net olmamasından dolayı çocuklarda kullanımını uygun

bulmamıştır (Johnson ve ark., 2018). Sağlıklı bireylerde öneriler ve kısıtlamaların uygulanması daha kolay olsa da, DM hastalarında sukrozun etkisi açık olduğu için sukroza alternatif ve kronik kullanımda metabolik belirteçleri etkilemeyecek, ulaşılabilir kalorisiz tatlandırıcı önerisinde bulunmak amaç edinilmeli ve bunu açığa çıkaracak çalışmalar sürdürülmelidir. Yapay tatlandırıcılar ile ilgili ayrıntılı klinik deneylerin yapılması, hayvan çalışmalarının uzun süreli kronik sonuçlarına bakılması, düşük ve yüksek dozlardaki tatlandırıcı kullanımının karşılaştırılma yapılarak sonuçların elde edilmesi tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotasına etkisini ileriki dönemlerde daha anlaşılır hale getirebilir. Ek olarak, bu sonuçlarda genetik altyapı, beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzları gibi etmenler ve tatlandırıcıların bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini değiştirebilecek diğer varyasyon kaynakları da değerlendirilirken dikkate alınmalıdır.

Yapay tatlandırıcı tüketiminden kaynaklanabilecek olumsuz sonuçları hafifletmeye yönelik potansiyel müdahaleleri araştırmak gelecek çalışmaların hedefleri arasında olmalıdır. Çalışmamızda sukraloz ve asesülfam potasyumun bağırsak mikrobiyotasına etkisi ve diyet kaynağı olarak kuersetin alımının bu sonuçlardaki potansiyel etkisine bakılmıştır. Kuersetinin bazı çalışmalarda bağırsak mikrobiyotası modülasyonu, DM komplikasyonları ve glukoz metabolizması üzerinde olumlu etkileri görülse de, klinik çalışmaların az sayıda olması ve uygulanan deney müdahalelerindeki farklılıklar açısından etkinliği hakkında kesin sonuçlar bildirmek için yetersiz kalmaktadır. Kuersetinin bu durumlardaki rolünü anlamak için özellikle daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Gıda takviyelerinin ve bağırsak mikrobiyotasını modüle eden diyet bileşenlerinin etkilerini daha net ortaya koyabilmek için, bu alanda çalışmaların artırılması ve daha uzun süreli diyet çalışmalarının yapılarak metabolik sendromlarda rol alabilecek mikrobiyota profilinin ortaya çıkarılması amaçlanmalıdır. Ancak aynı türden suşlar arasında bile etkilerin değişiklik gösterdiği (Grazioso ve ark., 2019) göz önüne alındığında, metabolik sendromla ilişkili mikrobiyotanın özelliklerinin ve mikrobiyal genlerin tanımlanmasının kısa vadede zor olacağı unutulmamalıdır.



## 7. KAYNAKLAR

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., et al. (2014). The placenta harbors a unique microbiome. *Science translational medicine*, 6(237), 237ra65. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
- Abdel-Latif, M. A., Elbestawy, A. R., El-Far, A. H., Noreldin, A. E., et al. (2021). Quercetin Dietary Supplementation Advances Growth Performance, Gut Microbiota, and Intestinal mRNA Expression Genes in Broiler Chickens. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(8), 2302. <https://doi.org/10.3390/ani11082302>
- Abou-Donia, M. B., El-Masry, E. M., Abdel-Rahman, A. A., McLendon, R. E., & Schiffman, S. S. (2008). Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 71(21), 1415–1429.
- Aggarwal, N., Kitano, S., Puah, G. R. Y., Kittelmann, S., Hwang, I. Y., et al. (2023). Microbiome and human health: current understanding, engineering, and enabling technologies. *Chemical reviews*, 123(1), 31–72. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00431>
- Aherne, S. A., & O'Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 18(1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00695-5](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00695-5)
- Ahmad, S. Y., Friel, J., & Mackay, D. (2020). The Effects of Non-Nutritive Artificial Sweeteners, Aspartame and Sucralose, on the Gut Microbiome in Healthy Adults: Secondary Outcomes of a Randomized Double-Blinded Crossover Clinical Trial. *Nutrients*, 12(11), 3408.
- Allin, K. H., Tremaroli, V., Caesar, R., Jensen, B. A. H., Damgaard, M. T. F., et al. (2018). Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*, 61(4), 810–820. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4550-1>
- Althoff, J., Cardesa, A., Pour, P., & Shubik, P. (1975). A chronic study of artificial sweeteners in Syrian golden hamsters. *Cancer Letters*, 1, 21-24.
- Aoyama, K., & Nagano, A. (2020). Effects of saccharin consumption on operant responding for sugar reward and incubation of sugar craving in rats. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(12), 1823. <https://doi.org/10.3390/foods9121823>
- Arumugam, B., Subramaniam, A., & Alagaraj, P. (2020). Stevia as a Natural Sweetener: A Review. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*, 18(2), 94–103. <https://doi.org/10.2174/1871525718666200207105436>
- Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., Ikram, M., Mulla, Z. S., El-Hack, M. E. A., et al. (2020). The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(3), 374. <https://doi.org/10.3390/foods9030374>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C., et al. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Berry, C., Brusick, D., Cohen, S. M., Hardisty, J. F., Grotz, V. L., et al. (2016). Sucralose Non-Carcinogenicity: A Review of the Scientific and Regulatory Rationale. *Nutrition and cancer*, 68(8), 1247–1261. <https://doi.org/10.1080/01635581.2016.1224366>
- Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2011). USDA database for the flavonoid content of selected foods, release 3. US Department of Agriculture: Beltsville, MD, USA, 159.
- Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., et al. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *PloS one*, 12(6), e0178426.
- Bigelman, K. A., Fan, E. H., Chapman, D. P., Freese, E. C., Trilk, J. L., et al. (2010). Effects of six weeks of quercetin supplementation on physical performance in ROTC cadets. *Military medicine*, 175(10), 791–798. <https://doi.org/10.7205/milmed-d-09-00088>.
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, btu170.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., et al. (2019). “Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2”, *Nature Biotechnology*, 37, 852-857.

- Bouvier, M., Meance, S., Bouley, C., Berta, JL ve Grimaud, JC (2001). Probiyotik suş bifidobacterium animalis DN-173 010 tarafından fermente edilmiş bir sütün tüketiminin sağlıklı insanlarda kolonik geçiş süreleri üzerindeki etkileri. *Biyobilim ve mikroflora*, 20 (2), 43-48.
- Brown, J., Pirrung, M., & McCue, L. A. (2017). FQC Dashboard: integrates FastQC results into a web-based, interactive, and extensible FASTQ quality control tool. *Bioinformatics*, 33(19), 3137-3139.
- Browning, K. N., Verheijden, S., & Boeckxstaens, G. E. (2017). The Vagus Nerve in Appetite Regulation, Mood, and Intestinal Inflammation. *Gastroenterology*, 152(4), 730–744. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.10.046>
- Bueno-Hernandez, N., Esquivel-Velázquez, M., Alcántara-Suárez, R., Gómez-Arauz, A. Y., Espinosa-Flores, A. J., et al. (2020). Chronic sucralose consumption induces elevation of serum insulin in young healthy adults: a randomized, double blind, controlled trial. *Nutrition journal*, 19(1), 32.
- Butchko, H. H., Stargel, W. W., Comer, C. P., Mayhew, D. A., Benninger, C., et al. (2002). Aspartame: review of safety. *Regulatory toxicology and pharmacology: RTP*, 35(2Pt2), S1–S93. <https://doi.org/10.1006/rtph.2002.1542>
- Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature reviews. Endocrinology*, 11(10), 577–591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56(7):1761–72
- Carakostas, M. C., Curry, L. L., Boileau, A. C., & Brusick, D. J. (2008). Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 46 Suppl 7, S1–S10. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.003>
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 302-317.
- Chang, Y. C., Ching, Y. H., Chiu, C. C., Liu, J. Y., Hung, S. W., et al. (2017). TLR2 and interleukin-10 are involved in Bacteroides fragilis-mediated prevention of DSS-induced colitis in gnotobiotic mice. *PLoS one*, 12(7), e0180025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180025>
- Chen, J., & Liu, W. (2021). Altered Gut Microbiota Profile in Lin28a Transgenic Mice Can Improve Glucose Tolerance. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 171(5), 644–650. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05286-1>
- Chen, X., Pan, S., Li, F., Xu, X., & Xing, H. (2022). Plant-derived bioactive compounds and potential health benefits: involvement of the gut microbiota and its metabolic activity. *Biomolecules*, 12(12), 1871. <https://doi.org/10.3390/biom12121871>
- Choudhary, A. K., & Lee, Y. Y. (2018). The debate over neurotransmitter interaction in aspartame usage. *Journal of clinical neuroscience: official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 56, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2018.06.043>
- Chow, J., & Mazmanian, S. K. (2010). A pathobiont of the microbiota balances host colonization and intestinal inflammation. *Cell host & microbe*, 7(4), 265–276. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.03.004>
- Collins, S. M., Surette, M., & Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature reviews. Microbiology*, 10(11), 735–742. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2876>
- Cremonini, F., Di Caro, S., Santarelli, L., Gabrielli, M., Candelli, M., et al. (2002). Probiotics in antibiotic-associated diarrhoea. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 34 Suppl 2, S78–S80. [https://doi.org/10.1016/s1590-8658\(02\)80171-2](https://doi.org/10.1016/s1590-8658(02)80171-2)
- Czarnecka, K., Pilarz, A., Rogut, A., Maj, P., Szymańska, J., et al. (2021). Aspartame-True or False? Narrative Review of Safety Analysis of General Use in Products. *Nutrients*, 13(6), 1957. <https://doi.org/10.3390/nu13061957>
- Dagdeviren, S., Jung, D. Y., Friedline, R. H., Noh, H. L., Kim, J. H., et al. (2017). IL-10 prevents aging-associated inflammation and insulin resistance in skeletal muscle. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 31(2), 701–710. <https://doi.org/10.1096/fj.201600832R>.

- De Angelis, M., Ferrocino, I., Calabrese, F. M., De Filippis, F., Cavallo, N., et al. (2020). Diet influences the functions of the human intestinal microbiome. *Scientific reports*, *10*(1), 4247. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61192-y>
- De Filippis, F., Pasolli, E., Tett, A., Tarallo, S., Naccarati, A., et al. (2019). Distinct genetic and functional traits of human intestinal prevotella copri strains are associated with different habitual diets. *Cell host & microbe*, *25*(3), 444–453.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.004>
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., et al. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(33), 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>
- Debras, C., Chazelas, E., Sellem, L., Porcher, R., Druésne-Pecollo, N., et al. (2022a). Artificial sweeteners and risk of cardiovascular diseases: results from the prospective NutriNet-Santé cohort. *BMJ (Clinical research ed.)*, *378*, e071204. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-071204>
- Debras, C., Chazelas, E., Srouf, B., Druésne-Pecollo, N., Esseddik, Y., et al. (2022b). Artificial sweeteners and cancer risk: Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS medicine*, *19*(3), e1003950. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003950>
- Debras, C., Deschasaux-Tanguy, M., Chazelas, E., Sellem, L., Druésne-Pecollo, N., et al. (2023). Artificial Sweeteners and Risk of Type 2 Diabetes in the Prospective NutriNet-Santé Cohort. *Diabetes care*, *46*(9), 1681–1690. <https://doi.org/10.2337/dc23-0206>
- Deepika, & Maurya, P. K. (2022). Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(8), 2498. <https://doi.org/10.3390/molecules27082498>
- Del Pozo, S., Gómez-Martínez, S., Díaz, L. E., Nova, E., Urrialde, R., et al. (2022). Potential Effects of Sucralose and Saccharin on Gut Microbiota: A Review. *Nutrients*, *14*(8), 1682.
- Denny Joseph, K. M., & Muralidhara (2015). Combined oral supplementation of fish oil and quercetin enhances neuroprotection in a chronic rotenone rat model: relevance to Parkinson's disease. *Neurochemical research*, *40*(5), 894–905. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1542-0>
- Derrien, M., Vaughan, E. E., Plugge, C. M., Vos, W. M. (2004). *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *54*(Pt 5), 1469–1476. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02873-0>
- Diaz, C., Rezende, L. F. M., Sabag, A., Lee, D. H., Ferrari, G., et al. (2023). Artificially Sweetened Beverages and Health Outcomes: An Umbrella Review. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, *14*(4), 710–717. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.05.010>
- Dominguez-Bello, M. G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., & Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, *68*(6), 1108–1114.
- Dong, Y., Lei, J., & Zhang, B. (2020). Effects of dietary quercetin on the antioxidative status and cecal microbiota in broiler chickens fed with oxidized oil. *Poultry science*, *99*(10), 4892–4903. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.028>
- Duan, H., Yu, L., Tian, F., Zhai, Q., Fan, L., et al. (2022). Antibiotic-induced gut dysbiosis and barrier disruption and the potential protective strategies. *Critical reviews in food science and nutrition*, *62*(6), 1427–1452. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843396>
- Dubourg, G., Lagier, J. C., Armougom, F., Robert, C., Hamad, I., et al. (2013). The gut microbiota of a patient with resistant tuberculosis is more comprehensively studied by culturomics than by metagenomics. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, *32*(5), 637–645. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1787-3>
- Düzgün, Ç., Dede, S., Karakuş, E., Adaş, M., Bilen, Ö. (2022). Biochemical analysis of microbiotas obtained from healthy, prediabetic, type 2 diabetes, and obese individuals. *Turkish Journal of Biochemistry*, *48*(1), 58-65.
- Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet (London, England)*, *365*(9468), 1415–1428. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66378-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66378-7)
- Eicher, T. P., & Mohajeri, M. H. (2022). Overlapping Mechanisms of Action of Brain-Active Bacteria and Bacterial Metabolites in the Pathogenesis of Common Brain Diseases. *Nutrients*, *14*(13), 2661. <https://doi.org/10.3390/nu14132661>

- El-Sayed, A., Aleya, L., Kamel, M. (2021). The link among microbiota, epigenetics, and disease development. *Environmental science and pollution research international*, 28(23), 28926–28964. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13862-1>
- Ettxeberria, U., Arias, N., Boqué, N., Macarulla, M. T., Portillo, M. P., et al. (2015). Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 26(6), 651–660. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.01.002>
- Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., et al. (2013). Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(22), 9066–9071. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219451110>
- Fagarasan, S., Kawamoto, S., Kanagawa, O., Suzuki, K. (2010). Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annual review of immunology*, 28, 243–273. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101314>
- Falcon, T., Foletto, K. C., Siebert, M., Pinto, D. E., Andrades, M., et al. (2020). Metabarcoding reveals that a non-nutritive sweetener and sucrose yield similar gut microbiota patterns in Wistar rats. *Genetics and molecular biology*, 43(1), e20190028. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0028>
- Federici M. (2019). Gut microbiome and microbial metabolites: a new system affecting metabolic disorders. *Journal of endocrinological investigation*, 42(9), 1011–1018. <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01022-9>
- Fei, N., Zhao, L. (2013). An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *The ISME journal*, 7(4), 880–884. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.153>
- Ferry, D. R., Smith, A., Malkhandi, J., Fyfe, D. W., deTakats, P. G., et al. (1996). Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2(4), 659–668.
- Finegold, S. M. (1996). Anaerobic Gram-Negative Bacilli. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology*. (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Fitch, C., Keim, K. S., & Academy of Nutrition and Dietetics (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(5), 739–758. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2012.03.009>
- Floch, M. H., & Montrose, D. C. (2005). Use of probiotics in humans: an analysis of the literature. *Gastroenterology clinics of North America*, 34(3), 547–x. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2005.05.004>
- Food and Drug Administration. 2023 (2023, Temmuz 19). Aspartame and Other Sweeteners in Food. <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/aspartame-and-other-sweeteners-food>
- Food Standards Australia New Zealand, 2023 (2023, Temmuz 26). <https://www.health.gov.au/>
- Ford, H. E., Peters, V., Martin, N. M., Sleeth, M. L., Ghatei, M. A., et al. (2011). Effects of oral ingestion of sucralose on gut hormone response and appetite in healthy normal-weight subjects. *European journal of clinical nutrition*, 65(4), 508–513. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.291>
- Frankenfeld, C. L., Sikaroodi, M., Lamb, E., Shoemaker, S., Gillevet, P. M. (2015). High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Annals of epidemiology*, 25(10), 736–42.e4. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2015.06.083>
- Gan, Z., Sun, H., Feng, B., Wang, R., & Zhang, Y. (2013). Occurrence of seven artificial sweeteners in the aquatic environment and precipitation of Tianjin, China. *Water research*, 47(14), 4928–4937. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.038>
- Garcia-Mantrana, I., Selma-Royo, M., Alcantara, C., Collado, M. C. (2018). Shifts on Gut Microbiota Associated to Mediterranean Diet Adherence and Specific Dietary Intakes on General Adult Population. *Frontiers in microbiology*, 9, 890. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00890>
- Ghosh, T. S., Shanahan, F., & O'Toole, P. W. (2022). The gut microbiome as a modulator of healthy ageing. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 19(9), 565–584. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00605-x>
- Gomes, A. C., Bueno, A. A., de Souza, R. G., Mota, J. F. (2014). Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutrition journal*, 13, 60. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-60>

- Grazioso, T. P., Brandt, M., Djouder, N. (2019). Diet, Microbiota, and Colorectal Cancer. *iScience*, *21*, 168–187. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.10.01>
- Greer, R. L., Dong, X., Moraes, A. C., Zielke, R. A., Fernandes, G. R., et al. (2016). Akkermansia muciniphila mediates negative effects of IFN $\gamma$  on glucose metabolism. *Nature communications*, *7*, 13329. <https://doi.org/10.1038/ncomms13329>
- Gregersen, S., Jeppesen, P. B., Holst, J. J., & Hermansen, K. (2004). Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism: clinical and experimental*, *53*(1), 73–76. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2003.07.013>
- Grice, E. A., & Segre, J. A. (2012). The human microbiome: our second genome. *Annual review of genomics and human genetics*, *13*, 151–170. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090711-163814>
- Grotz, V. L., & Munro, I. C. (2009). An overview of the safety of sucralose. *Regulatory toxicology and pharmacology: RTP*, *55*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.05.011>
- Grotz, V. L., Henry, R. R., McGill, J. B., Prince, M. J., Shamoony, H., et al. (2003). Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *Journal of the American Dietetic Association*, *103*(12), 1607–1612. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2003.09.021>
- Gurung, M., Li, Z., You, H., Rodrigues, R., Jump, D. B., et al. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, *51*, 102590. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>
- Habtemariam S. (2020). Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link. *Pharmacological research*, *155*, 104722. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104722>
- Hall, A. B., Yassour, M., Sauk, J., Garner, A., Jiang, X., et al. (2017). A novel Ruminococcus gnavus clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome medicine*, *9*(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0490-5>
- Hamelin, H., Poizat, G., Florian, C., Kurs, M. B., Pittaras, E., et al. (2022). Prolonged Consumption of Sweetened Beverages Lastingly Deteriorates Cognitive Functions and Reward Processing in Mice. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, *32*(7), 1365–1378. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab274>
- Hanawa, Y., Higashiyama, M., Kurihara, C., Tanemoto, R., Ito, S., Mizoguchi, A., et al. (2021). Acesulfame potassium induces dysbiosis and intestinal injury with enhanced lymphocyte migration to intestinal mucosa. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *36*(11), 3140–3148. <https://doi.org/10.1111/jgh.15654>
- Haro, C., Montes-Borrego, M., Rangel-Zúñiga, O. A., Alcalá-Díaz, J. F., Gómez-Delgado, F., et al. (2016). Two Healthy Diets Modulate Gut Microbial Community Improving Insulin Sensitivity in a Human Obese Population. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *101*(1), 233–242. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3351>
- Harrington, V., Lau, L., Crits-Christoph, A., Suez, J. (2022). Interactions of Non-Nutritive Artificial Sweeteners with the Microbiome in Metabolic Syndrome. *Immunometabolism*, *4*(2), e220012. <https://doi.org/10.20900/immunometab20220012>
- Higgins, K. A., Considine, R. V., & Mattes, R. D. (2018). Aspartame Consumption for 12 Weeks Does Not Affect Glycemia, Appetite, or Body Weight of Healthy, Lean Adults in a Randomized Controlled Trial. *The Journal of nutrition*, *148*(4), 650–657. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy021>
- Hills, R. D., Jr, Pontefract, B. A., Mishcon, H. R., Black, C. A., Sutton, S. C., et al. (2019). Gut Microbiome: Profound Implications for Diet and Disease. *Nutrients*, *11*(7), 1613. <https://doi.org/10.3390/nu11071613>
- Hoban, A. E., Moloney, R. D., Golubeva, A. V., Neufeld, K. M., O’Sullivan, et al. (2016). Behavioural and neurochemical consequences of chronic gut microbiota depletion during adulthood in the rat. *Neuroscience*, *339*, 463–477.
- Horne, J., Lawless, H. T., Speirs, W., & Sposato, D. (2002). Bitter taste of saccharin and acesulfame K. *Chemical senses*, *27*(1), 31–38. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.1.31>
- Hosseini, A., Barlow, G. M., Leite, G., Rashid, M., Parodi, G., et al. (2023). Consuming artificial sweeteners may alter the structure and function of duodenal microbial communities. *iScience*, *26*(12), 108530. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.108530>
- Howard, E. J., Lam, T. K. T., Duca, F. A. (2022). The Gut Microbiome: Connecting Diet, Glucose Homeostasis, and Disease. *Annual review of medicine*, *73*, 469–481. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220-012821>

- Huang, Q., Murphy, J., Smith, E. R., Sylvestsky, A. C. (2021). Diet Beverage Intake during Lactation and Associations with Infant Outcomes in the Infant Feeding Practices Study II. *Nutrients*, 13(9), 3154. <https://doi.org/10.3390/nu13093154>
- Humphries, P., Pretorius, E., Naudé, H. (2008). Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain. *European journal of clinical nutrition*, 62(4), 451–462. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602866>
- Huus, K. E., Petersen, C., Finlay, B. B. (2021). Diversity and dynamism of IgA-microbiota interactions. *Nature reviews. Immunology*, 21(8), 514–525. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00506-1>
- Ivanov, I. I., Frutos, R.deL., Manel, N., Yoshinaga, K., et al. (2008). Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell host & microbe*, 4(4), 337–349. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.09.009>
- İşgören, A., Sungur, S. (2019). Tatlandırıcılar. *Lectio Scientific*, 3(1), 19-33.
- Jang, H. J., Kokrashvili, Z., Theodorakis, M. J., Carlson, O. D., Kim, B. J., et al. (2007). Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(38), 15069–15074. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706890104>
- Jenner, M. R., & Smithson, A. (1989). Physicochemical properties of the sweetener sucralose. *Journal of food science*, 54(6), 1646-1649.
- Johansson, M. E., Larsson, J. M. H., & Hansson, G. C. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(supplement\_1), 4659-4665.
- John, B. A., Wood, S. G., & Hawkins, D. R. (2000). The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the mouse. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 38 Suppl 2, S107–S110. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(00\)00032-6](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(00)00032-6)
- Johnson, R. K., Lichtenstein, A. H., Anderson, C. A. M., Carson, J. A., Després, J. P., et al. (2018). Low-Calorie Sweetened Beverages and Cardiometabolic Health: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation*, 138(9), e126–e140. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000569>
- Ju, S., Ge, Y., Li, P., Tian, X., Wang, H., et al. (2018). Dietary quercetin ameliorates experimental colitis in mouse by remodeling the function of colonic macrophages via a heme oxygenase-1-dependent pathway. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 17(1), 53–63. <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.138770>
- Juge N. (2012). Microbial adhesins to gastrointestinal mucus. *Trends in microbiology*, 20(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.10.001>
- Kamada, N., Seo, S. U., Chen, G. Y., & Núñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature reviews. Immunology*, 13(5), 321–335. <https://doi.org/10.1038/nri3430>
- Kang, D. W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., Labaer, J., et al. (2013). Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PloS one*, 8(7), e68322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068322>
- Karlsson, F. H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C. J., et al. (2013). Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*, 498(7452), 99–103. <https://doi.org/10.1038/nature12198>
- Kawamoto, S., Uemura, K., Hori, N., (2023). Bacterial induction of B cell senescence promotes age-related changes in the gut microbiota. *Nat Cell Biol*. <https://doi.org/10.1038/s41556-023-01145-5>
- Keshavarzian, A., Green, S. J., Engen, P. A., Voigt, R. M., Naqib, A., et al. (2015). Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(10), 1351-1360.
- Khorshidi, M., Moini, A., Alipoor, E., Rezvan, N., Gorgani-Firuzjaee, S., et al. (2018). The effects of quercetin supplementation on metabolic and hormonal parameters as well as plasma concentration and gene expression of resistin in overweight or obese women with polycystic ovary syndrome. *Phytotherapy research: PTR*, 32(11), 2282–2289. <https://doi.org/10.1002/ptr.6166>
- Kikuchi, K., Ben Othman, M., & Sakamoto, K. (2018). Sterilized bifidobacteria suppressed fat accumulation and blood glucose level. *Biochemical and biophysical research communications*, 501(4), 1041–1047. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.105>

- Kim, S., Covington, A., & Pamer, E. G. (2017). The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunological reviews*, 279(1), 90–105. <https://doi.org/10.1111/imr.12563>
- Kim, Y., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. (2019). Non-nutritive Sweeteners and Glycaemic Control. *Current atherosclerosis reports*, 21(12), 49. <https://doi.org/10.1007/s11883-019-0814-6>
- Lan, H., Hong, W., Qian, D., Peng, F., Li, H., et al. (2021). Quercetin modulates the gut microbiota as well as the metabolome in a rat model of osteoarthritis. *Bioengineered*, 12(1), 6240–6250. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1969194>
- Landrigan, P. J., & Straif, K. (2021). Aspartame and cancer - new evidence for causation. *Environmental health: a global access science source*, 20(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12940-021-00725-y>
- Larsen, N., Vogensen, F. K., van den Berg, F. W., Nielsen, D. S., Andreasen, A. S., et al. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS one*, 5(2), e9085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009085>
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500(7464), 541–546. <https://doi.org/10.1038/nature12506>
- Le, T. K., Hosaka, T., Nguyen, T. T., Kassu, A., Dang, T. O., et al. (2015). Bifidobacterium species lower serum glucose, increase expressions of insulin signaling proteins, and improve adipokine profile in diabetic mice. *Biomedical research (Tokyo, Japan)*, 36(1), 63–70. <https://doi.org/10.2220/biomedres.36.63>
- LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., et al. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current opinion in biotechnology*, 24(2), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
- Ley R. E. (2010). Obesity and the human microbiome. *Current opinion in gastroenterology*, 26(1), 5–11. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e328333d75>
- Li, A. J., Schmitz, O. J., Stephan, S., Lenzen, C., Yue, P. Y., et al. (2016). Photocatalytic transformation of acesulfame: Transformation products identification and embryotoxicity study. *Water research*, 89, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.035>
- Li, X., Liu, Y., Wang, Y., Li, X., Liu, X., et al. (2020). Sucralose Promotes Colitis-Associated Colorectal Cancer Risk in a Murine Model Along With Changes in Microbiota. *Frontiers in oncology*, 10, 710. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00710>
- Li, X., Wang, N., Yin, B., Fang, D., Jiang, T., et al. (2016). Effects of Lactobacillus plantarum CCFM0236 on hyperglycaemia and insulin resistance in high-fat and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. *Journal of applied microbiology*, 121(6), 1727–1736. <https://doi.org/10.1111/jam.13276>
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., et al. (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- Liauchonak, I., Qorri, B., Dawoud, F., Riat, Y., & Szewczuk, M. R. (2019). Non-Nutritive Sweeteners and Their Implications on the Development of Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 11(3), 644. <https://doi.org/10.3390/nu11030644>
- Lin, R., Piao, M., & Song, Y. (2019). Dietary Quercetin Increases Colonic Microbial Diversity and Attenuates Colitis Severity in *Citrobacter rodentium*-Infected Mice. *Frontiers in microbiology*, 10, 1092. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01092>
- Liu, F., Li, P., Chen, M., Luo, Y., Prabhakar, M., et al. (2017). Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Increase Bifidobacterium but Reduce Butyrate Producing Bacteria with Adverse Glycemic Metabolism in healthy young population. *Scientific reports*, 7(1), 11789. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10722-2>
- Lobach, A. R., Roberts, A., & Rowland, I. R. (2019). Assessing the in vivo data on low/no-calorie sweeteners and the gut microbiota. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 124, 385–399. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.005>
- Lohner, S., Kuellenberg de Gaudry, D., Toews, I., Ferenci, T., & Meerpohl, J. J. (2020). Non-nutritive sweeteners for diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*, 5(5), CD012885. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012885.pub2>
- Lopetuso, L. R., Scalfaferrì, F., Petito, V., & Gasbarrini, A. (2013). Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut pathogens*, 5(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-5-23>

- Lurie, I., Yang, Y. X., Haynes, K., Mamtani, R., & Boursi, B. (2015). Antibiotic exposure and the risk for depression, anxiety, or psychosis: a nested case-control study. *The Journal of clinical psychiatry*, *76*(11), 825.
- Lv, M., Yang, S., Cai, L., Qin, L. Q., Li, B. Y., et al. (2018). Effects of Quercetin Intervention on Cognition Function in APP/PS1 Mice was Affected by Vitamin D Status. *Molecular nutrition & food research*, *62*(24), e1800621. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800621>
- Lyon L. (2018). 'All disease begins in the gut': was Hippocrates right?. *Brain: a journal of neurology*, *141*(3), e20. <https://doi.org/10.1093/brain/awy017>
- Lyu, Y. L., Zhou, H. F., Yang, J., Wang, F. X., Sun, F., et al. (2022). Biological Activities Underlying the Therapeutic Effect of Quercetin on Inflammatory Bowel Disease. *Mediators of inflammation*, *2022*, 5665778. <https://doi.org/10.1155/2022/5665778>
- Ma, X., Nan, F., Liang, H., Shu, P., Fan, X., et al. (2022). Excessive intake of sugar: An accomplice of inflammation. *Frontiers in immunology*, *13*, 988481. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.988481>
- Magnuson, B. A., Carakostas, M. C., Moore, N. H., Poulos, S. P., & Renwick, A. G. (2016). Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutrition reviews*, *74*(11), 670–689. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw032>
- Margolis, K. G., Cryan, J. F., & Mayer, E. A. (2021). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, *160*(5), 1486–1501. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066>
- Martinic, A., Barouei, J., Bendiks, Z., Mishchuk, D., Heeney, D. D., et al. (2018). Supplementation of *Lactobacillus plantarum* Improves Markers of Metabolic Dysfunction Induced by a High Fat Diet. *Journal of proteome research*, *17*(8), 2790–2802. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00282>
- Mazloom, Z., Abdollah, Z. S. M., Dabbaghmanesh, M. H., & Rezaianzadeh, A. (2014). The effect of quercetin supplementation on oxidative stress, glycemic control, lipid profile and insulin resistance in type 2 diabetes: a randomized clinical trial.
- McNabney, S. M., & Henagan, T. M. (2017). Short Chain Fatty Acids in the Colon and Peripheral Tissues: A Focus on Butyrate, Colon Cancer, Obesity and Insulin Resistance. *Nutrients*, *9*(12), 1348. <https://doi.org/10.3390/nu9121348>
- Méndez-García, L. A., Bueno-Hernández, N., Cid-Soto, M. A., De León, K. L., Mendoza-Martínez, V. M., et al. (2022). Ten-Week Sucralose Consumption Induces Gut Dysbiosis and Altered Glucose and Insulin Levels in Healthy Young Adults. *Microorganisms*, *10*(2), 434. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020434>
- Merki, C. M. (1993). *Zucker gegen Saccharin: zur Geschichte der künstlichen Süsstoffe*. Campus Verlag.
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., et al. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, *81*(4), e00036-17. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>
- Miller, P. E., & Perez, V. (2014). Low-calorie sweeteners and body weight and composition: a meta-analysis of randomized controlled trials and prospective cohort studies. *The American journal of clinical nutrition*, *100*(3), 765–777. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.082826>
- Million, M., Diallo, A., & Raoult, D. (2017). Gut microbiota and malnutrition. *Microbial pathogenesis*, *106*, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.003>
- Mitchell, A. E., Hong, Y. J., Koh, E., Barrett, D. M., Bryant, D. E., et al. (2007). Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(15), 6154–6159. <https://doi.org/10.1021/jf070344+>
- Morais, L. H., Schreiber, H. L., 4th, & Mazmanian, S. K. (2021). The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature reviews. Microbiology*, *19*(4), 241–255. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00460-0>
- Moreno-Navarrete JM, Manco M, Ibáñez J, et al. (2010). Metabolic endotoxemia and saturated fat contribute to circulating NGAL concentrations in subjects with insulin resistance. *Int. J. Obes.* *34*(2):240–49
- Moriconi, E., Feraco, A., Marzolla, V., Infante, M., Lombardo, et al. (2020). Neuroendocrine and Metabolic Effects of Low-Calorie and Non-Calorie Sweeteners. *Frontiers in endocrinology*, *11*, 444. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00444>
- Moroti, C., Souza Magri, L. F., de Rezende Costa, M., Cavallini, D. C., & Sivieri, K. (2012). Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. *Lipids in health and disease*, *11*, 29. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-29>

- Murali, A., Giri, V., Cameron, H. J., Sperber, S., Zickgraf, F. M., et al. (2022). Investigating the gut microbiome and metabolome following treatment with artificial sweeteners acesulfame potassium and saccharin in young adult Wistar rats. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 165, 113123. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113123>
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (2023 Kasım 28). Quercetin. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556474/>
- Neufeld, K. M., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J. A. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 23(3), 255–e119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x>
- Nie, J., Zhang, L., Zhao, G., & Du, X. (2019). Quercetin reduces atherosclerotic lesions by altering the gut microbiota and reducing atherogenic lipid metabolites. *Journal of applied microbiology*, 127(6), 1824–1834. <https://doi.org/10.1111/jam.14441>
- Nishimuro, H., Ohnishi, H., Sato, M., Ohnishi-Kameyama, M., Matsunaga, I., et al. (2015). Estimated daily intake and seasonal food sources of quercetin in Japan. *Nutrients*, 7(4), 2345–2358. <https://doi.org/10.3390/nu7042345>
- Oliveira, V. M., Carraro, E., Auler, M. E., & Khalil, N. M. (2016). Quercetin and rutin as potential agents antifungal against *Cryptococcus* spp. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*, 76(4), 1029–1034. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.07415>
- Olivier-Van Stichelen, S., Rother, K. I., & Hanover, J. A. (2019). Maternal Exposure to Non-nutritive Sweeteners Impacts Progeny's Metabolism and Microbiome. *Frontiers in microbiology*, 10, 1360. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01360>
- Osinski, C., Moret, D., Clément, K., Serradas, P., & Ribeiro, A. (2022). Enteroendocrine System and Gut Barrier in Metabolic Disorders. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3732. <https://doi.org/10.3390/ijms23073732>
- Ott, S. J., Musfeldt, M., Wenderoth, D. F., Hampe, J., Brant, O., Fölsch, U. R., Timmis, K. N., & Schreiber, S. (2004). Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut*, 53(5), 685–693. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.025403>
- Ozidal, T., Sela, D. A., Xiao, J., Boyacioglu, D., Chen, F., et al. (2016). The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility. *Nutrients*, 8(2), 78. <https://doi.org/10.3390/nu8020078>
- Örkü, Ş. E., (2020) Aspartam, sakarin, sükraloz ve asesülfam-k tatlandırıcılarının glukoz toleransı üzerine etkilerinin belirlenmesi.
- Pavanello, S., Moretto, A., La Vecchia, C., & Alicandro, G. (2023). Non-sugar sweeteners and cancer: Toxicological and epidemiological evidence. *Regulatory toxicology and pharmacology: RTP*, 139, 105369. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2023.105369>
- Pearlman, M., Obert, J., & Casey, L. (2017). The Association Between Artificial Sweeteners and Obesity. *Current gastroenterology reports*, 19(12), 64. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0602-9>
- Pedersen, H. K., Gudmundsdottir, V., Nielsen, H. B., Hyotylainen, T., Nielsen, T., et al. (2016). Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*, 535(7612), 376–381. <https://doi.org/10.1038/nature18646>
- Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neant, F., et al. (2005). Review article: bifidobacteria as probiotic agents -- physiological effects and clinical benefits. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 22(6), 495–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02615.x>
- Piggott, D. A., & Tuddenham, S. (2020). The gut microbiome and frailty. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*, 221, 23–43. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.03.012>
- Plaza-Diaz, J., Pastor-Villaescusa, B., Rueda-Robles, A., Abadia-Molina, F., & Ruiz-Ojeda, F. J. (2020). Plausible Biological Interactions of Low- and Non-Calorie Sweeteners with the Intestinal Microbiota: An Update of Recent Studies. *Nutrients*, 12(4), 1153.
- Plovier, H., Everard, A., Druart, C., Depommier, C., Van Hul, M., et al. (2017). A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nature medicine*, 23(1), 107–113. <https://doi.org/10.1038/nm.4236>

- Porras, D., Nistal, E., Martínez-Flórez, S., Pisonero-Vaquero, S., Olcoz, J. L., et al. (2017). Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation. *Free radical biology & medicine*, 102, 188–202. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.037>
- Portincasa, P., Bonfrate, L., Vacca, M., De Angelis, M., Farella, I., et al. (2022). Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids: Implications in Glucose Homeostasis. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1105. <https://doi.org/10.3390/ijms23031105>
- Puertollano, E., Kolida, S., & Yaqoob, P. (2014). Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 17(2), 139–144. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000025>
- Qi, X., Yun, C., Sun, L., Xia, J., Wu, Q., et al. (2019). Gut microbiota-bile acid-interleukin-22 axis orchestrates polycystic ovary syndrome. *Nature medicine*, 25(8), 1225–1233. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0509-0>
- Ragi, M. E., El-Helou, N., El-Mallah, C., Eid, A., & Obeid, O. A. (2021). Effect of temperature and/or sweetness of beverages on body composition in rats. *The British journal of nutrition*, 125(8), 934–942. <https://doi.org/10.1017/S0007114520003359>
- Rajilić-Stojanović, M., & Vos, W. M. (2014). The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS microbiology reviews*, 38(5), 996–1047. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12075>
- Rajilić-Stojanović, M., Biagi, E., Heilig, H. G., Kajander, K., Kekkonen, R. A., et al. (2011). Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 141(5), 1792–1801. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.043>
- Rauf, A., Imran, M., Khan, I. A., Ur-Rehman, M., Gilani, S. A., et al. (2018). Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phytotherapy research: PTR*, 32(11), 2109–2130. <https://doi.org/10.1002/ptr.6155>
- Rezvan, N., Moini, A., Janani, L., Mohammad, K., Saedisomeolia, A., et al. (2017). Effects of Quercetin on Adiponectin-Mediated Insulin Sensitivity in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Placebo-Controlled Double-Blind Clinical Trial. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, 49(2), 115–121. <https://doi.org/10.1055/s-0042-118705>
- Richardson, I. L., & Frese, S. A. (2022). Non-nutritive sweeteners and their impacts on the gut microbiome and host physiology. *Frontiers in nutrition*, 9, 988144. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.988144>
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., et al. (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Riva, A., Corti, A., Belcaro, G., Cesarone, M. R., Dugall, M., et al. (2019). Interaction study between antiplatelet agents, anticoagulants, diabetic therapy and a novel delivery form of quercetin. *Minerva cardioangiologica*, 67(1), 79–83. <https://doi.org/10.23736/S0026-4725.18.04795-3>
- Roberts, A., Renwick, A. G., Sims, J., & Snodin, D. J. (2000). Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. *Food and chemical toxicology*, 38, 31–41.
- Rogers, P. J., Hogenkamp, P. S., de Graaf, C., Higgs, S., Lluch, A., et al. (2016). Does low-energy sweetener consumption affect energy intake and body weight? A systematic review, including meta-analyses, of the evidence from human and animal studies. *International journal of obesity (2005)*, 40(3), 381–394. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.177>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584
- Romo-Romo, A., Aguilar-Salinas, C. A., Brito-Córdova, G. X., Gómez-Díaz, R. A., Almeda-Valdes, P. (2018). Sucralose decreases insulin sensitivity in healthy subjects: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 108(3), 485–491. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy152>
- Roper, S. D., & Chaudhari, N. (2017). Taste buds: cells, signals and synapses. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(8), 485–497. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.68>
- Rosca, A. E., Iesanu, M. I., Zahiu, C. D. M., Voiculescu, S. E., Paslaru, A. C., et al. (2020). Capsaicin and Gut Microbiota in Health and Disease. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(23), 5681. <https://doi.org/10.3390/molecules25235681>

- Roshanravan, N., Askari, S. F., Fazelian, S., Ayati, M. H., & Namazi, N. (2023). The roles of quercetin in diabetes mellitus and related metabolic disorders; special focus on the modulation of gut microbiota: A comprehensive review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(17), 2990–3003. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1983765>
- Rymon Lipinski, G. W., & Hanger, L. Y. (2001). Acesulfame K. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 13-30.
- Saikali, J., Picard, C., Freitas, M., & Holt, P. (2004). Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. *Nutrition and cancer*, 49(1), 14–24. [https://doi.org/10.1207/s15327914nc4901\\_3](https://doi.org/10.1207/s15327914nc4901_3)
- Sakkas, H., Bozidis, P., Touzios, C., Kolios, D., Athanasiou, G., Athanasopoulou, E., et al. (2020). Nutritional Status and the Influence of the Vegan Diet on the Gut Microbiota and Human Health. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(2), 88. <https://doi.org/10.3390/medicina56020088>
- Samaniego Vaesken, M. L., Partearroyo, T., & Varela Moreiras, G. (2021). Low and no calorie sweeteners, diet and health: an updated overview. Edulcorantes bajos en o sin calorías, dieta y salud: una visión actual. *Nutricion hospitalaria*, 37(Spec No2), 24–27. <https://doi.org/10.20960/nh.03352>
- Sanna, S., van Zuydam, N. R., Mahajan, A., Kurilshikov, A., Vich Vila, A., et al. (2019). Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nature genetics*, 51(4), 600–605. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0350-x>
- Sarkar, S. R., Mazumder, P. M., & Banerjee, S. (2022). Oligosaccharide and Flavanoid Mediated Prebiotic Interventions to Treat Gut Dysbiosis Associated Cognitive Decline. *Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 17(1-2), 94–110. <https://doi.org/10.1007/s11481-021-10041-4>
- Sasaki, M., Ogasawara, N., Funaki, Y., Mizuno, M., Iida, A., et al. (2013). Transglucosidase improves the gut microbiota profile of type 2 diabetes mellitus patients: a randomized double-blind, placebo-controlled study. *BMC gastroenterology*, 13, 81. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-13-81>
- Schell, M. A., Karmirantzou, M., Snel, B., Vilanova, D., Berger, B., et al. (2002). The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(22), 14422–14427. <https://doi.org/10.1073/pnas.212527599>
- Schiffman, S. S., & Rother, K. I. (2013). Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews*, 16(7), 399–451. <https://doi.org/10.1080/10937404.2013.842523>
- Schoenig, G. P., & Anderson, R. L. (1985). The effects of high dietary levels of sodium saccharin on mineral and water balance and related parameters in rats. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 23(4-5), 465–474. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90141-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90141-3)
- Schulze, M. B., Manson, J. E., Ludwig, D. S., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., et al. (2004). Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*, 292(8), 927–934. <https://doi.org/10.1001/jama.292.8.927>
- Sears C. L. (2009). Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clinical microbiology reviews*, 22(2), 349–369. <https://doi.org/10.1128/CMR.00053-08>
- Shabbir, U., Rubab, M., Daliri, E. B., Chelliah, R., Javed, A., et al. (2021). Curcumin, Quercetin, Catechins and Metabolic Diseases: The Role of Gut Microbiota. *Nutrients*, 13(1), 206. <https://doi.org/10.3390/nu13010206>
- Sharma, R., Schumacher, U., Ronaasen, V., & Coates, M. (1995). Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. *Gut*, 36(2), 209–214. <https://doi.org/10.1136/gut.36.2.209>
- Shen, P., Lin, W., Deng, X., Ba, X., Han, L., et al. (2021). Potential Implications of Quercetin in Autoimmune Diseases. *Frontiers in immunology*, 12, 689044. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.689044>
- Shen, Z., Zhu, C., Quan, Y., Yang, J., Yuan, W., et al. (2018). Insights into *Roseburia intestinalis* which alleviates experimental colitis pathology by inducing anti-inflammatory responses. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 33(10), 1751–1760. <https://doi.org/10.1111/jgh.14144>
- Shi, T., Bian, X., Yao, Z., Wang, Y., Gao, W., et al. (2020). Quercetin improves gut dysbiosis in antibiotic-treated mice. *Food & function*, 11(9), 8003–8013. <https://doi.org/10.1039/d0fo01439g>

- Shi, Y., & Williamson, G. (2016). Quercetin lowers plasma uric acid in pre-hyperuricaemic males: a randomised, double-blinded, placebo-controlled, cross-over trial. *The British journal of nutrition*, *115*(5), 800–806. <https://doi.org/10.1017/S0007114515005310>
- Shin, N. R., Whon, T. W., & Bae, J. W. (2015). Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in biotechnology*, *33*(9), 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.0>
- Sims, J., Roberts, A., Daniel, J. W., Renwick, A. G. (2000). The metabolic fate of sucralose in rats. *Food and chemical Toxicology*, *38*, 115-121.
- Socala, K., Doboszewska, U., Szopa, A., Serefko, A., Włodarczyk, M., et al. (2021). The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacological research*, *172*, 105840. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105840>
- Sommer, F., & Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nature reviews. Microbiology*, *11*(4), 227–238. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2974>
- Stampe, S., Leth-Møller, M., Greibe, E., Hoffmann-Lücke, E., Pedersen, M., et al. (2022). Artificial Sweeteners in Breast Milk: A Clinical Investigation with a Kinetic Perspective. *Nutrients*, *14*(13), 2635. <https://doi.org/10.3390/nu14132635>
- Steinert, R. E., Frey, F., Töpfer, A., Drewe, J., & Beglinger, C. (2011). Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *The British journal of nutrition*, *105*(9), 1320–1328. <https://doi.org/10.1017/S000711451000512X>
- Suez, J., Cohen, Y., Valdés-Mas, R., Mor, U., Dori-Bachash, M., et al. (2022). Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance. *Cell*, *185*(18), 3307–3328.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.07.016>
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., et al. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, *514*(7521), 181–186.
- Sultana, B., & Anwar, F. (2008). Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food chemistry*, *108*(3), 879–884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.053>
- Sun, C., Wang, H., Wang, D., Chen, Y., Zhao, Y., et al. (2015). Using an FFQ to assess intakes of dietary flavonols and flavones among female adolescents in the Suihua area of northern China. *Public health nutrition*, *18*(4), 632–639. <https://doi.org/10.1017/S1368980014000780>
- Swithers, S. E., & Davidson, T. L. (2008). A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral neuroscience*, *122*(1), 161–173. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.122.1.161>
- Swithers, S. E., Martin, A. A., Clark, K. M., Laboy, A. F., & Davidson, T. L. (2010). Body weight gain in rats consuming sweetened liquids. Effects of caffeine and diet composition. *Appetite*, *55*(3), 528–533. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.08.021>
- Sylvetsky, A. C., Gardner, A. L., Bauman, V., Blau, J. E., Garraffo, H. M., et al. (2015). Nonnutritive Sweeteners in Breast Milk. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, *78*(16), 1029–1032. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1053646>
- Sylvetsky, A. C., Jin, Y., Clark, E. J., Welsh, J. A., Rother, K. I., et al. (2017). Consumption of Low-Calorie Sweeteners among Children and Adults in the United States. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *117*(3), 441–448.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2016.11.004>
- Sylvetsky, A., Rother, K. I., & Brown, R. (2011). Artificial sweetener use among children: epidemiology, recommendations, metabolic outcomes, and future directions. *Pediatric clinics of North America*, *58*(6), 1467–xi. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2011.09.007>
- Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., et al. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Advances in immunology*, *121*, 91–119. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
- Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., et al. (2009). Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental microbiology*, *11*(10), 2574–2584. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01982.x>

- Taur, Y., & Pamer, E. G. (2013). The intestinal microbiota and susceptibility to infection in immunocompromised patients. *Current opinion in infectious diseases*, 26(4), 332–337. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283630dd3>
- Taylor, J. M., Weinberger, M. A., & Friedman, L. (1980). Chronic toxicity and carcinogenicity to the urinary bladder of sodium saccharin in the in utero-exposed rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 54(1), 57-75.
- Temizkan, Ş., (2012). Diyet tatlandırıcıların Tip 2 Diyabet hastalarında Glp-1, Pyy, insülin, c Peptid Ve Kan Glukozu üzerine Etkileri (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- Thomson, P., Santibañez, R., Aguirre, C., Galgani, J. E., et al. (2019). Short-term impact of sucralose consumption on the metabolic response and gut microbiome of healthy adults. *Br J Nutr.*, 122(8), 856–862.
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *The Biochemical journal*, 474(11), 1823–1836. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
- Tsan, L., Chometton, S., Hayes, A. M., Klug, M. E., Zuo, Y., et al. (2022). Early-life low-calorie sweetener consumption disrupts glucose regulation, sugar-motivated behavior, and memory function in rats. *JCI insight*, 7(20), e157714. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.157714>
- Uebanso, T., Ohnishi, A., Kitayama, R., Yoshimoto, A., Nakahashi, M., et al. (2017). Effects of Low-Dose Non-Caloric Sweetener Consumption on Gut Microbiota in Mice. *Nutrients*, 9(6), 560. <https://doi.org/10.3390/nu9060560>
- Vaiserman, A. M., Koliada, A. K., & Marotta, F. (2017). Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing research reviews*, 35, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.01.001>
- Vamanu, A., Vamanu, E., Popa, O., Câmpeanu, G., Albulescu, R., et al. (2008). Obtaining of a symbiotic product based on lactic bacteria, pollen and honey. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 11(4), 613–617. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.613.617>
- Wallace, B. D., Wang, H., Lane, K. T., Scott, J. E., Orans, J., et al. (2010). Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6005), 831–835. <https://doi.org/10.1126/science.1191175>
- Wan, M. L. Y., Co, V. A., & El-Nezami, H. (2021). Dietary polyphenol impact on gut health and microbiota. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(4), 690–711. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1744512>
- Wang, L., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., Gerber, J. P., Angley, M. T., et al. (2011). Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Applied and environmental microbiology*, 77(18), 6718–6721. <https://doi.org/10.1128/AEM.05212-11>
- Wang, Q. P., Browman, D., Herzog, H., & Neely, G. G. (2018). Non-nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PloS one*, 13(7), e0199080.
- Wilk, K., Korytek, W., Pelczyńska, M., Moszak, M., & Bogdański, P. (2022). The Effect of Artificial Sweeteners Use on Sweet Taste Perception and Weight Loss Efficacy: A Review. *Nutrients*, 14(6), 1261. <https://doi.org/10.3390/nu14061261>
- World Health Organization, 2023 (2023, Temmuz 19). Health effects of the use of non-sugar sweeteners: a systematic review and meta-analysis. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240046429>
- World Health Organization, 2023b (2023, Temmuz 19). Aspartame hazard and risk assessment results released. <https://www.who.int/news/item/14-07-2023-aspartame-hazard-and-risk-assessment-results-released>
- Wu, H., Tremaroli, V., Schmidt, C., Lundqvist, A., Olsson, L. M., et al. (2020b). The Gut Microbiota in Prediabetes and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Cell metabolism*, 32(3), 379–390.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.011>
- Wu, J., Wei, Z., Cheng, P., Qian, C., Xu, F., et al. (2020a). Rhein modulates host purine metabolism in intestine through gut microbiota and ameliorates experimental colitis. *Theranostics*, 10(23), 10665–10679. <https://doi.org/10.7150/thno.43528>
- Xu, B., Qin, W., Xu, Y., Yang, W., Chen, Y., et al. (2021). Dietary Quercetin Supplementation Attenuates Diarrhea and Intestinal Damage by Regulating Gut Microbiota in Weanling Piglets. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 6221012. <https://doi.org/10.1155/2021/6221012>

- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*(Basel,Switzerland), 24(6),1123. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
- Xu, J., Lian, F., Zhao, L., Zhao, Y., Chen, X., et al. (2015). Structural modulation of gut microbiota during alleviation of type 2 diabetes with a Chinese herbal formula. *The ISME journal*, 9(3), 552–562. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.177>
- Xu, T., Wang, X., Chen, Y., Li, H., Zhao, L., et al. (2023). Microbiome Features Differentiating Unsupervised-Stratification-Based Clusters of Patients with Abnormal Glycometabolism. *mBio*, 14(1), e0348722. <https://doi.org/10.1128/mbio.03487-22>
- Yang, D. K., & Kang, H. S. (2018). Anti-Diabetic Effect of Cotreatment with Quercetin and Resveratrol in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biomolecules & therapeutics*, 26(2), 130–138. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.254>
- Yang, Y., Weng, W., Peng, J., Hong, L., Yang, L., et al. (2017). *Fusobacterium nucleatum* Increases Proliferation of Colorectal Cancer Cells and Tumor Development in Mice by Activating Toll-Like Receptor 4 Signaling to Nuclear Factor- $\kappa$ B, and Up-regulating Expression of MicroRNA-21. *Gastroenterology*, 152(4), 851–866.e24. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.11.018>
- Yu, Z., Wang, Y., Lu, J., Bond, P. L., & Guo, J. (2021). Nonnutritive sweeteners can promote the dissemination of antibiotic resistance through conjugative gene transfer. *The ISME journal*, 15(7), 2117–2130
- Zhang, G. H., Chen, M. L., Liu, S. S., Zhan, Y. H., Quan, Y., et al. (2011). Effects of mother's dietary exposure to acesulfame-K in pregnancy or lactation on the adult offspring's sweet preference. *Chemical senses*, 36(9), 763–770.
- Zhang, X., Shen, D., Fang, Z., Jie, Z., Qiu, X., et al. (2013). Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PloS one*, 8(8), e71108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071108>
- Zhang, Z., Peng, X., Li, S., Zhang, N., Wang, Y., et al. (2014). Isolation and identification of quercetin degrading bacteria from human fecal microbes. *PloS one*, 9(3), e90531. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090531>
- Zhou X, Qiao K, Wu H, Zhang Y. (2023). The impact of food additives on the abundance and composition of gut microbiota. *molecules*. 28(2):631.
- Zhou, Z., Sun, B., Yu, D., & Zhu, C. (2022). Gut Microbiota: An Important Player in Type 2 Diabetes Mellitus. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 834485. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.834485>

## 8. EKLER

### 8.1. Tez İçin Gerekli İzin ve Onamlar

#### 8.1.1. Etik kurul kararı



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2023 – 004

Karar Tarihi: 06.04.2023

#### Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN ve Zahide YILDIZ'ın sunduğu "Yapay Tatlandırıcıların Ratlarda Bağırsak Mikrobiyotasının Modülasyonu ve Glisemi Düzeyleri ile İlişkisinin ve Kuersetin'in bu Parametreler Üzerindeki Potansiyel Etkisinin İncelenmesi" başlıklı tez projesi 10 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede toplam 48 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında dekapite edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet TUGAN YILMAZ  
Başkan

Adres : Meram Tıp Fakültesi Eski Yerleşkesi 42060 Akyolcuş — Meram / KONYA  
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : konudam@konya.edu.tr  
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağı : https://www.konya.edu.tr/deneyselip