



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**SİRKADİYEN RİTİMLERİ BOZULMUŞ FARELERDE
PROBİYOTİK TAKVİYESİNİN SİRKADİYEN RİTİM
GENLERİ VE SERUM ZONULİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Büşra TEPEBAŞI

Danışman
Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

SAMSUN
2023

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**



**SİRKADİYEN RİTİMLERİ BOZULMUŞ FARELERDE
PROBİYOTİK TAKVİYESİNİN SİRKADİYEN RİTİM
GENLERİ VE SERUM ZONULİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Büşra TEPEBAŞI

Danışman

Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.SBF.1904.21.010 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Büşra TEPEBAŞI tarafından, **Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT** danışmanlığında hazırlanan “**SİRKADİYEN RİTİMLERİ BOZULMUŞ FARELERDE PROBİYOTİK TAKVİYESİNİN SİRKADİYEN RİTİM GENLERİ VE SERUM ZONULİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 20.2.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Aslı UÇAR Ankara Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT Ondokuz Mayıs Üniversitesi Beslenme Bilimleri Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Pınar SÖKÜLMEZ KAYA Ondokuz Mayıs Üniversitesi Beslenme Bilimleri Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

05/ 01/ 2023
Büşra TEPEBAŞI

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: SİRKADİYEN RİTİMLERİ BOZULMUŞ FARELERDE PROBİYOTİK TAKVİYESİNİN SİRKADİYEN RİTİM GENLERİ VE SERUM ZONULİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 05/01/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 11

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

05 / 01 / 2023
Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

ÖZET

SİRKADİYEN RİTİMLERİ BOZULMUŞ FARELERDE PROBİYOTİK TAKVİYESİNİN SİRKADİYEN RİTİM GENLERİ VE SERUM ZONULİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Büşra TEPEBAŞI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Beslenme Bilimleri Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ocak/2023
Danışman: Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

Araştırmamızda aydınlık ve karanlık döngüleri her iki haftada bir değiştirilerek sirkadiyen ritimleri bozulmuş farelerde probiyotik takviyesinin; merkezi sirkadiyen ritim gen ekspresyonları ve bir bağırsak bariyer geçirgenliği belirteci olan serum zonulin düzeyi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BALB/c türü her biri 8 fareden oluşan 3 farklı deney hayvanı grubu oluşturulmuştur. Gruplar sırasıyla; Kontrol grubu, Sirkadiyen ritimleri aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmuş grup (BSR) ve Sirkadiyen ritimleri aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmuş ve çalışmanın son iki ayında probiyotik takviyesi verilmiş gruplardır. (Probiyotik+BSR). Farelerde merkezi sirkadiyen ritim gen ekspresyonları incelenmiş ve ağırlık kazanımı hesaplanmıştır. Biyokimyasal yöntemler için ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Çalışma sonunda sirkadiyen ritimleri bozulmuş gruplar arasında başlangıç ve son ağırlıklar ile ağırlık değişimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında Zonulin seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla artış saptanmıştır. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,503$). Merkezi sirkadiyen ritim genleri olan Clock, Bmal1 ve Per2 genlerinin ekspresyonları gruplar arasında ve örnek alım saatleri arasında değişiklik gösterse de sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sonuç olarak, sirkadiyen ritimlerin aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmasının ağırlık kazanımını artırdığı, serum zonulin düzeylerinde artırıcı bir etkisinin olduğu ve merkezi sirkadiyen ritim genleri üzerine ekspresyon seviyelerinin değişmesine sebep olduğu görülmüştür. Sirkadiyen ritimleri değiştirilmiş farelerde probiyotik takviyesinin ağırlık kazanımını probiyotik almayan gruba göre azalttığı, serum zonulin seviyesi üzerine ve Per2 geninin ekspresyon seviyesinde olumlu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Sirkadiyen Ritim, Sirkadiyen Ritim Genleri, Zonulin, Probiyotik, Bağırsak Geçirgenliği

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECT OF PROBIOTIC SUPPLEMENT ON CIRCADIAN RHYTHM GENES AND SERUM ZONULIN LEVELS IN MICE WITH DISTURBED CIRCADIAN RHYTHMS

Büşra TEPEBAŞI

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Nutritional Sciences

Master, January/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT

In our study, it was aimed to investigate the effects of probiotic supplementation on central circadian rhythm gene expressions and serum zonulin level, a marker of intestinal barrier permeability, in mice with impaired circadian rhythms by changing the light and dark cycles every two weeks.

We formed three groups of experimental animals in BALB/c genus, each consisting of 8 mice. Kontrol was control group, BSR was the group whose circadian rhythms were disrupted by changing the light/dark cycles and Probiyotik+BSR was the group whose circadian rhythms were disrupted by changing the light/dark cycles and were given probiotic supplementation in the last two months of the study. Central circadian rhythm gene expressions in mice were examined and weight gain was calculated. ELISA method was used for biochemical methods.

At the end of the study, there was a statistically significant difference between the groups in terms of baseline and final weights ($p < 0,05$). The serum zonulin levels of the mice in BSR and Probiyotik+BSR with disrupted circadian rhythms were increased compared to the control group. But, this increase was not statistically significant ($p = 0,503$). Although the expressions of the central circadian rhythm genes Clock, Bmal1 and Per2 varied between groups and between sampling times, the results were not statistically significant.

In conclusion, it was observed that disruption of circadian rhythms by changing the light/dark cycles increased weight gain, had an increasing effect on serum zonulin levels and caused a change in expression levels on central circadian rhythm genes. It was concluded that probiotic supplementation reduced weight gain in mice with disrupted circadian rhythms compared to the group that did not receive probiotics, and had a positive effect on serum zonulin level and expression level of Per2 gene.

Keywords: Circadian Rhythm, Circadian Rhythm Genes, Zonulin, Probiotic, Intestinal Permeability

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Doç. Dr. Mehtap ÜNLÜ SÖĞÜT'e ve Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Pınar SÖKÜLMEZ KAYA başta olmak üzere tüm değerli bölüm hocalarıma,

Desteklerini esirgemeyen, canım annem Nahide TEPEBAŞI, babam Fahri TEPEBAŞI ve abim Yusuf TEPEBAŞI'na,

Tez sürecimde yardımı ve desteğini hep hissettiğim çalışma arkadaşım Arzou KIOSE SERİF'e, tez sürecimde bilgi ve deneyimleriyle her zaman yardımcı olan araştırma görevlisi arkadaşlarım Ayşe BURUŞ ve Burcu ALAKUŞ ÇINAR'a ve hep yanımda olduğunu hissettiğim dostlarıma,

Kendimi bildim bileli her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen manevi teyzem Raziye AKAR'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.SBF.1904.21.010 proje numarası ile desteklenmiştir.

Büşra TEPEBAŞI

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sirkadiyen Ritim Tanımı.....	3
2.2. Sirkadiyen Ritimlerin Moleküler Mekanizması.....	4
2.3. Sirkadiyen Ritimleri Etkileyen Faktörler.....	5
2.3.1. Işık	6
2.3.2. Melatonin	6
2.3.3. Beslenme.....	7
2.3.4. Vardiyalı çalışma ve Jet lag	7
2.4. Sirkadiyen Ritim Bozuklukları	8
2.5. Sirkadiyen Ritim Bozukluklarında Terapötik Yaklaşımlar.....	9
2.5.1. Işık Tedavisi.....	9
2.5.2. Melatonin Takviyesi	10
2.5.3. Zaman Kısıtlamalı Beslenme	10
2.6. Mikrobiyota.....	11
2.7. Beyin Bağırsak Mikrobiyota Aksı	12
2.8. Mikrobiyotayı Etkileyen Faktörler.....	13
2.9. Disbiyozis	14
2.10. Bağırsak Bariyeri	15
2.10.1. Bağırsak Bariyer Geçirgenliği ve Zonulin	16
2.11. Sirkadiyen Ritim ve Bağırsak Geçirgenliği	16
2.12. Sirkadiyen Ritim ve Mikrobiyota İlişkisi.....	17
2.13. Probiyotikler	18
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Amaç	20
3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	20
3.3. Aydınlık/Karanlık Döngüsünün Değiştirilme Protokolü	21
3.4. Probiyotik İçeriği	22
3.5. Serum Örneklerinde Zonulin Düzeyinin Belirlenmesi	22
3.6. RNA İzolasyonu ve Kantitatif RT-PCR.....	22
3.7. Primer Dizimleri	23
3.8. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ.....	36
KAYNAKLAR	25
EKLER.....	30
ÖZ GEÇMİŞ.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

CLOCK	: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
CRY	: Cryptochrome
BMAL1	: Brain and Muscle Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear-Like 1
ELISA	: The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
HPA	: Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Eksen
IEC	: Bağırsak Epitel Hücreleri
ISAPP	: Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Birliği
mRNA	: Haberci Ribonükleik Asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
PER	: Period
PSQI	: Pittsburgh Uyku Kalite İndeksi
REV-ERB	: Transcription Factor Reverse Erythroblastosis Virus
ROR	: Retinoid-Related Orphan Receptor
RHT	: Retinohipotalamik Yol
ROR	: Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor
SCN	: Suprakiazmik Çekirdek
TTFL	: Transkripsiyon-Translasyon Geri Beslenme Döngüsü
TJ	: Sıkı Bağlantı Kompleksi
ZT	: Zeitgeber Time

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Aydınlık/Karanlık Döngüsünün Değiştirilme Protokolü.....	21
Şekil 4.1. Ağırlık Değişimleri	26
Şekil 4.2. Gruplar Arası Ağırlık Değişimleri	26
Şekil 4.3. Serum Zonulin Seviyeleri	27
Şekil 4.4. Clock mRNA Ekspresyonu Seviyeleri	28
Şekil 4.5. Bmal1 mRNA Ekspresyonu Seviyeleri	28
Şekil 4.6. Per2 mRNA Ekspresyonu Seviyeleri.....	29



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarına ait antropometrik özellikler	25
Tablo 4.2. Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarına ait serum zonulin ortalama değerleri.....	27



1. GİRİŞ

Sirkadiyen ritimler, yaklaşık 24 saat süren ve merkezi saat olan hipotalamik suprakiazmatik çekirdek (SCN) tarafından üretilen ve düzenlenen endojen biyodavranışsal döngülerdir (Videnovic vd., 2014). SCN'nin dışındaki sirkadiyen saatler, periferel saatler olarak adlandırılır ve periferel saatler merkezi sirkadiyen saat tarafından yönetilir (Gabryelska vd., 2022). SCN'de bulunan merkezi saat, vücut çapında bir sirkadiyen ağ oluşturmak için beyin ve periferik organ sistemlerindeki saatleri senkronize eder. Özellikle, SCN, retinohipotalamik yol (RHT) yoluyla retinadan ışık hakkında bilgi aldığından, organizma saatlerini ışığa senkronize etmek için kritik öneme sahiptir (Koronowski ve Sassone-Corsi, 2021).

Hücreseel düzeyde sirkadiyen saat ritmi, birbirine kenetlenmiş pozitif ve negatif geri besleme döngüleri oluşturan bir dizi gen ve protein tarafından yönetilir. Bu genler, "Clock" ile "Bmal1" transkripsiyon faktörlerinden ve bunların hedefleri olan Periyot (Per 1,2,3) ve Cryptochrome (Cry1 ve Cry2) genlerinden oluşur (Ko ve Takahashi, 2006). Özünde, bu saat genlerinin heterodimerleri, bir oto-düzenleyici transkripsiyonel-translasyonel geri besleme döngüsü oluşturmak için birbirlerinin transkripsiyonel aktivatörleri ve baskılayıcıları olarak hareket ederler (Bumgarner vd., 2021).

Sirkadiyen bozulma, hücrelerdeki moleküler ritimlerden çevresel değişikliklerle davranış döngülerinin yanlış hizalanmasına kadar farklı organizasyonel düzeylerde meydana gelebilen biyolojik zamanlamadaki bir bozulma olarak tanımlanmaktadır (Qian ve Scheer, 2016). Bozulmuş sirkadiyen ritim, değiştirilmiş gen ekspresyon seviyeleri sergiler (Quintero vd., 2003). Sirkadiyen ritmin bozulması, nörolojik, immün ve gastrointestinal sistem dâhil olmak üzere vücudun neredeyse tüm sistemlerini etkileyen birçok hastalıkla ilişkilidir (Parkar vd., 2019; Shivshankar vd., 2020; Segers ve Depoortere, 2021).

Sirkadiyen ritim ile bağırsak mikrobiyotası arasında çift yönlü bir etkileşim olup; sirkadiyen ritim bozulmasının intestinal mikrobiyota disbiyozisine yol açtığı aynı zamanda bağırsak mikrobiyotasının da sirkadiyen ritmi etkilediği görülmüştür (Thaiss vd., 2014; Parkar vd., 2019; Bishehsari vd., 2020). Sirkadiyen ritim bozulması sonucu oluşan disbiyozis (bağırsak mikrobiyotasında homeostazın bozulması) artmış bağırsak geçirgenliği için tetikleyici rolündedir ve mikrobiyota bileşimindeki sirkadiyen

kaynaklı değişikliklerin, sirkadiyen düzensizliğin sağlığa zararlı etkilerine aracılık etmede rol oynadığı düşünölmektedir (Voigt vd., 2014; Schmalte ve Lorentz, 2020). Çalışmalar bağırsak mikroorganizmalarının konakçı saat geni düzenleyici ağını etkilediğini ve bağırsak mikrobiyotasının sirkadiyen ritme etkisini mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenini yoluyla açıklamaktadır (Li vd., 2018; Osadchiy vd., 2019; Teichman vd., 2020; Schurhoff ve Toborek, 2023). Bununla birlikte, sirkadiyen düzensizlikler ve bağırsak mikrobiyotasını birbirine bağlayan moleküler mekanizmalar büyük ölçüde keşfedilmemiş durumdadır (Khalyfa vd., 2017; Frazier ve Chang, 2020; Matenchuk vd., 2020). Her ne kadar yakın zamanda yapılan bir çalışmada prebiyotik takviyesinin sirkadiyen ritim genlerine etkisi olduğu görölmüş olsa da (Cheng vd., 2020) literatür incelemesi sonucunda deney hayvanlarında probiyotik takviyesinin sirkadiyen ritim gen ekspresyonlarına ve bağırsak geçirgenliği göstergeleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya ulaşılammıştır ve probiyotik müdahaleli çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda sirkadiyen ritmi aydınlık/karanlık döngüleri bozulan farelerde probiyotik takviyesinin merkezi sirkadiyen ritim saat genleri ve bir bağırsak geçirgenliği göstergesi olan serum zonulin düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sirkadiyen Ritim Tanımı

Sirkadiyen ritimler, organizmaların aydınlık ve karanlık arasındaki geçişlere fizyolojik olarak uyum sağlamasını sağlayan davranış ve biyolojik süreçlerdeki yaklaşık 24 saatlik zaman uzunluğuna sahip salınımlardır (Scheiermann vd., 2018; Matenchuk vd., 2020; Tian vd., 2022). Sirkadiyen kelimesi Latince circa ve diem sözcüklerinin birleşiminden oluşarak, 'yaklaşık bir gün' anlamına gelir. Sirkadiyen ritimler, bakterilerden bitkilere, omurgasızlara ve memelilere kadar neredeyse tüm yaşam formlarında çok çeşitli davranışsal, fizyolojik ve metabolik işlevleri yönetir (Hastings vd., 2003; Greco ve Sassone-Corsi, 2019). Bu ritimler, dinlenme-uyanıklık zamanlamasından hücresel seviyedeki metabolik süreçlere kadar vücuttaki her organizasyon düzeyinde olan önemli fizyolojik aktiviteleri dış ortamdaki değişikliklerle senkronize eder (Sollars ve Pickard, 2015; He vd., 2016).

Sirkadiyen ritimler, çok sayıda saat kontrollü genin sirkadiyen ekspresyonunu yönlendiren, memelilerin hemen hemen her hücresinde bulunan bir dizi sirkadiyen saat genleri tarafından üretilir (Rosenwasser ve Turek, 2015; Voigt vd., 2019). Hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdekte (SCN) bulunan merkezi sirkadiyen saat, tamamlanması yaklaşık 24 saat süren bir dizi birbirine kenetlenmiş transkripsiyonel-translasyonel geri besleme döngüsünden oluşur (Voigt vd., 2019; Sciarra vd., 2020). SCN, memelilerde ana osilatör olarak tanımlanır, vücut çapında bir sirkadiyen ağ oluşturmak için beyin ve periferik organ sistemlerindeki saatleri senkronize eder (Partch vd., 2014). Özellikle, SCN, retinohipotalamik yoluyla (RHT) retinadan ışık hakkında bilgi aldığından, organizma saatlerini ışığa senkronize etmek için kritik öneme sahiptir (Koronowski ve Sassone-Corsi, 2021). SCN'deki çeşitli nöron ve astrosit popülasyonu, retinal fotik sinyal bilgisini yorumlayan ve vücudun geri kalanına doğrudan ve dolaylı ritmik sinyalleşme ipuçları sağlayan devreleri içerir (Silver vd., 2018). Işığın varlığı örneğin güneşin doğuşu ve batışı SCN aracılığıyla günlük ritimlerin çoğunu belirler; bu da daha sonra günün saat bilgisini beynin geri kalanına ve periferik organlara aktararak koordineli ritimlere ve davranışlara yol açar (Arble vd., 2010). Uyku/uyanıklık, beslenme/açlık ve vücut ısısı ritimleri sirkadiyen saat tarafından kontrol edilen ritimlere örnektir.

Salınım yaklaşık 24 saatlik bir periyoda sahipse ve sürekli ışık veya sürekli

karanlık gibi sabit koşullarda devam ediyorsa bir ritim sirkadiyen olarak kabul edilir (Kuhlman vd., 2018). Sirkadiyen saat, sabit koşullarda ritimleri sürdürmek için dahili bir kendi kendini idame ettiren mekanizma olarak işlev görür ancak aynı zamanda çevresel ipuçlarına verilen davranışsal tepkileri de senkronize eder (Patke vd., 2020).

Sirkadiyen düzenleme, SCN’de bulunan merkezi saat ve hemen hemen her doku ve hücrede bulunan periferik saatlerden oluşan çoklu sirkadiyen osilatörlerin hiyerarşisi ile sağlanır (Qian ve Scheer, 2016). SCN nöronları, moleküler saatlerin senkronize edilmesini sağlamak için retinohipotalamik yol yoluyla retinadan girdi alır ve girdiler yoluyla 24 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü ile senkronize edilebilir. (Lananna ve Musiek, 2020). Hem merkezi hem de periferik saatler temelde aynı moleküler mimariyi paylaşır (Ko ve Takahashi, 2006). SCN’de ve tüm periferik dokularda bulunan sirkadiyen genler, organizmalarda zamansal ritmi koruyan moleküler mekanizmalardır (Reppert ve Weaver, 2002).

Periferik saatler çevresel ve dahili sinyalleri toplayan SCN dışı dokularda, karaciğer, kas, kalp, yağ dokusu ve gastrointestinal sistem (GİS) dahil olmak üzere periferik organlarda bulunur (Albrecht, 2012). Sirkadiyen saatler önemli sayıda biyolojik süreci kontrol ederek, bu süreçleri çevresel koşulların günlük dalgalanmalarıyla senkronize etmeye yardımcı olur (Yu vd., 2013; Gutierrez Lopez vd., 2021). Merkezi saat, sinir uyarıları ve hormonlar aracılığıyla periferik sirkadiyen yolları düzenler (Scheiermann vd., 2013; Sollars ve Pickard, 2015). Merkezi saat esas olarak aydınlık/karanlık döngüsüne yanıt verirken, periferik saatler merkezi saati dolaylı olarak düzenleyen diğer dış etkenlere (örneğin, sıcaklık, diyet, zamanlama ve gıda alımının içeriğı) yanıt verir (Stokkan vd., 2001; Albrecht, 2012).

2.2. Sirkadiyen Ritimlerin Moleküler Mekanizması

Memelilerde, sirkadiyen sistem, sirkadiyen ritimlerin ifadesine yol açan, tamamlanması yaklaşık 24 saat süren bir dizi birbirine bağı transkripsiyon-translasyon geri beslenme döngüsünden (TTFL) oluşur (Voigt vd., 2019; Sciarra vd., 2020). Memeliler çevreden gelen ışık bilgisini gözleri aracılığıyla algılar ve ışık sinyallerini vücutların ritmik performanslarını düzenleyen birkaç sirkadiyen sinyal molekülünün salınımlarına dönüştürür (Bumgarner vd., 2021). Gözlerden SCN’ye fotik sürüklenme sürecinde, retinadaki retina ganglion hücreleri, ortamdan ilk ışık bilgisini alan

fotoreseptörler olarak kabul edilir ve bu ışık bilgisi, retinohipotalamik yol (RHT) aracılığıyla SCN nöronlarına iletilir (Hogenesch ve Ueda, 2011).

TTFL; Clock (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), Bmal1 (Brain and muscle ARNT-Like 1), Per (Period), Cry (Cryptochrome) dahil olmak üzere birçok saat gen/protein ailesini içerir (Bumgarner vd., 2021). Özünde, bu saat genlerinin heterodimerleri, bir oto-düzenleyici transkripsiyonel-translasyonel geri besleme döngüsü oluşturmak için birbirlerinin transkripsiyonel aktivatörleri ve baskılayıcıları olarak hareket ederler (Bass ve Takahashi, 2010). Bu genler TTFL yoluyla moleküler düzeyde sirkadiyen süreçleri düzenleyen proteinler üretmek için haberci ribonükleik asitleri (mRNA'lar) ifade ederler, genom içindeki diğer genlerin transkripsiyonunu aktive ederek ve baskılayarak sirkadiyen ritimleri yönlendirirler (Partch vd., 2014; Sciarra vd., 2020). Birincil geri besleme döngüsünde, Clock ve Bmal1, SCN hücrelerinin sitozolünde heterodimerler oluşturur, hedef genlerin promotör bölgelerindeki E-kutucuğu elementlerine bağlanır ve transkripsiyonlarını aktive eder. Bmal1/Clock hedef genleri arasında Per ve Cry saat genleri bulunur (Peng vd., 2022). Bu ana döngünün negatif geri besleme kısmında, sitoplazmada Cry ve Per' den oluşan başka bir heterodimer oluşur ve daha sonra Bmal1 ve Clock ile indüklenen transkripsiyonu baskılayarak kendisinin daha fazla ekspresyonunu engellemek için çekirdekte yer değiştirir (Hergenhahn vd., 2020; Man vd., 2016). Per ve Cry genleri, Bmal1 ve Clock'un ilk transkripsiyonunu durduran bir geri besleme inhibisyonu oluşturmak üzere dimerleşir (Gallego ve Virshup, 2007). Bu transkripsiyonel ağ, çeşitli dokularda bulunan sayısız başka genin ifadesini düzenler (Korenčič vd., 2014).

Başka bir negatif geri besleme döngüsü, nükleer reseptör ailesine ait ters eritroblastozis virüs alfa ve betalardan (REV-ERB α ve REV-ERB β) ve retinoik asit ilişkili orphan reseptörlerden (ROR α , ROR β ve ROR γ) oluşur. REV-ERB ve ROR'lar, sırasıyla Bmal1 transkripsiyonunu baskılamak ve aktive etmek için Bmal1 promotörü üzerinde hareket eder (Guillaumond vd., 2005; Ko ve Takahashi, 2006).

2.3. Sirkadiyen Ritimleri Etkileyen Faktörler

Sirkadiyen ritimlerin evresini sıfırlayabilen çevresel faktörler, Zeitgeberler (Almanca'dan "zaman veren") olarak bilinir. Zeitgeber, içsel saat ritimlerini sürükleyen harici veya çevresel uyaranlar anlamına gelir (Roenneberg vd., 2003). Memelilerdeki bazı önemli zeitgeberler, ışık, yiyecek türü ve mevcudiyeti, yeme

zamanlaması, fiziksel aktivite ve sosyal ipuçlarını içerir (Takahashi, 2017; Tognini vd, 2017).

2.3.1. Işık

Işık, sirkadiyen ritim sürüklenmesini tetikleyen en güçlü dış zeitgeberdir. Modern sanayileşmiş toplumlarda, geceleri ışığa maruz kalma, önceki yüzyıllara göre çok daha yaygındır ve dünya nüfusunun büyük bir bölümünde sirkadiyen ritim bozulmasına yol açar (Potter vd., 2016). Memeli sirkadiyen sistemi, beş dakika gibi kısa bir sürede birden fazla ışığa maruz kalmayla etkilenebilir, aralıklı parlak ışığa maruz kalma bile sirkadiyen fazı değiştirebilir (Hébert vd., 2002). Hem gece hem de gündüz memelilerinin sirkadiyen ritimleri, gece boyunca ışığın yeniden ayarlanmasına duyarlıdır. Geceleri yapay ışık ve daha kısa dalga boyuna sahip ekranların kullanılması dahil olmak üzere anormal aydınlık/karanlık döngülerinin sirkadiyen ritimlerin bozulmasına neden olduğu bilinmektedir (Guan ve Lazar, 2021).

2.3.2. Melatonin

Melatonin (N-Asetil-5-Metoksitriptamin), epifiz bezi tarafından sentezlenen ve salınan endojen bir hormondur (Moore, 2007). Melatonin sekresyonu, SCN, preganglionik nöronlar ve superior servikal gangliondan post-ganglionik lifler aracılığıyla sempatik innervasyonlardan oluşan multisinaptik bir nöral yol yoluyla kontrol edilir (Rodríguez-Santana vd., 2023). Melatonin yüksek yayılabilirliği nedeniyle epifiz içinde depolanmaz ve üretilir üretilmez salınır (Tan vd., 2018). Melatonin sirkadiyen ritimlerin zamanlamasını değiştirme ve SCN üzerindeki etkisiyle uykuyu destekleme yeteneğine sahiptir; temel fizyolojik rolü, mevsimsel fizyolojinin organizasyonu için gün uzunluğu hakkında bilgi sağlamaktır (Arendt, 1998). Gün boyunca, retinadan gelen ışık girişi ile SCN aktive edildiğinde melatonin üretimi inhibe edilir (Zisapel, 2018). Işık koşulları azaldığında, SCN melatonin sentezini ve salınımını indüklemek için bir nöral çıkış sinyali tetikler (Pandi-Perumal vd., 2008). Melatonin seviyeleri, tipik olarak geceleri zirve yapan bir sirkadiyen ritme sahiptir (Tan vd., 2018).

Melatonin, tüm memeli türlerinde aydınlık/karanlık döngüsünün karanlık fazında salınır. Sırasıyla gece ve gündüz, yüksek ve düşük kan konsantrasyonlarıyla ilişkili olan günlük melatonin üretiminin düzenliliği göz önüne alındığında, melatonin çeşitli organların sirkadiyen ritimlerini ve işlevlerini senkronize edebilir (Arendt,

2019). Melatonin üretim ritmi sirkadiyen sistemde olduğu gibi, öncelikle retina aracılığıyla etki eden aydınlık-karanlık döngüsü ve SCN'ye retinohipotalamik projeksiyon ile 24 saate senkronize edilir (Arendt, 2019). Memelilerde melatonin reseptörlerinin en yüksek yoğunluğu SCN'de, ön hipofizde ve retinadadır. Melatoninin oldukça lipofilik doğası, çoğu hücrel bölüme ulaşmasına izin verir ve kan, beyin omurilik sıvısı, tükürük ve anne sütü gibi birçok vücut sıvısında tespit edilebilir (Foster, 2021).

2.3.3. Beslenme

Diyet, sirkadiyen ritimlerin sürüklenmesinde başka bir kritik faktördür (Duboc vd., 2020). Yüksek yağlı diyetin, saat genlerinin ve saat kontrollü genlerin beyin, karaciğer ve yağ dokusundaki ekspresyonlarını değiştirdiği görülmektedir (Kohsaka vd., 2007; Leone vd., 2015). Yeme zamanının da periferik doku saatleri için baskın bir zeitgeber olduğu bilinmektedir (Guan vd., 2020). Bir hafta boyunca gündüz saatlerinde zaman kısıtlamalı besleme, deney hayvanlarının periferik dokularındaki sirkadiyen kontrollü genlerin sirkadiyen ekspresyonunun fazını tamamen değiştirirken, aydınlık/karanlık döngülerinin hâkim olduğu merkezi saati etkilemiştir (Hara vd., 2001; Stokkan vd., 2001). Farelerde dinlenme fazında (aydınlık faz) yeme, sirkadiyen gen ekspresyonunu büyük ölçüde bozarak karaciğerde ve kalpte sirkadiyen ritim genlerinde anormal ekspresyon modellerine neden olmuştur (Bray vd., 2013). Düzensiz uyku saatlerinin eşlik ettiği yanlış zamanlanmış yemenin, sirkadiyen ritimlerin bozulmasına ve metabolik bozukluk riskinin artmasına neden olduğu görülmüştür (Ahluwalia, 2022).

2.3.4. Vardiyalı çalışma ve Jet lag

Normal uyku düzeninde herhangi bir kesinti, örneğin vardiyalı çalışma, iki veya daha fazla zaman diliminde seyahat (jet lag) veya sosyal jet lag, sirkadiyen yanlış hizalamaya yol açabilir (Ahluwalia, 2022). Vardiyalı çalışma, normal gündüz saatleri dışındaki çalışmayı ifade eder ve uyku/uyanıklık döngüsündeki değişikliklerle de ilişkili olan gece vardiyaları, sabah erken vardiyaları veya dönüşümlü vardiyalar gibi standart olmayan çalışma programlarını içerir (Wickwire vd., 2017). Sosyal jetlag ise özellikle iş ve sosyal kısıtlamalar nedeniyle insanların günlük yaşamlarında deneyimledikleri sirkadiyen sisteme karşı meydan okumayla oluşan uyku düzensizliğine atıfta bulunmak için kullanılır (Wittmann vd., 2006; Roenneberg vd.,

2012). Vardiyalı çalışma ve jet lag, SCN'nin dış ortamla senkronizasyonunun bozulmasına yol açan, modern yaşam tarzıyla ilişkili sık görülen sirkadiyen bozulma faktörlerini temsil eder (Vosko vd., 2010).

2.4. Sirkadiyen Ritim Bozuklukları

İç sirkadiyen saatin dış zamanla koordinasyon süreci, sürüklenme veya senkronizasyon olarak bilinir ve bu koordinasyon süreci dış zaman ipuçları olarak bilinen zeitgeberlerin varlığını gerektirir (Vetter, 2020). Sirkadiyen ritimler ağırlıklı olarak aydınlık/karanlık döngüsü aracılığıyla gündüz saatine senkronize olarak vücutta uygun davranış ve fizyolojik fonksiyonların oluşmasını sağlar. Sirkadiyen bozulma, moleküler, hücresel, doku veya sistem seviyesindeki içsel değişikliklerden farklı organizasyonel seviyeler arasındaki yanlış hizalamaya ve/veya davranışsal ve çevresel döngülere kadar birçok seviyede meydana gelebilir (Fishbein vd., 2021). Işık döngüsü coğrafi bölgeye ve mevsimlere bağlıdır, bu nedenle aydınlık-karanlık modelindeki değişiklikler sirkadiyen saat çıktılarını bozabilir (Husse ve diğerleri, 2015). Sirkadiyen bozulma, uyku veya beslenme gibi davranışların aydınlık/karanlık döngülerinin uyumlu olmadığı ve homeostatik durumu etkilediği zaman ortaya çıkar (Lopez vd., 2021). Sirkadiyen ritim bozulması, ritim faz kayması, pik gen ekspresyonu zamanının değişmesi gibi moleküler sirkadiyen saatte değişikliklere neden olur (Voigt vd., 2019). Sirkadiyen yanlış hizalanma, sirkadiyen desenkronizasyon, sosyal jetlag, krono-bozulma gibi birçok terim benzer durumlara atıf yapmak için kullanılmaktadır (Vetter, 2020).

Çevresel hareketler, gen polimorfizmleri veya davranışlar dahil olmak üzere birçok faktör sirkadiyen ritmi bozabilir. Vardiyalı çalışma (Schilperoort vd., 2019), Jet lag (Reid ve Abbott, 2015), sosyal jet lag (Roenneberg vd., 2012), tutarsız yemek yeme saatleri (Tahara vd., 2018) ve yüksek yağlı diyet (Leone vd., 2015) gibi durumlar sirkadiyen ritimleri bozan örnekler arasındadır. Bu durumlarda görülen sirkadiyen bozulmada ortak olan faktörler arasında; karanlık faz sırasında ışığa maruz kalma, gıda alımı ve uyku bozukluğu bulunmaktadır (Pickel ve Sung, 2020). Uykunun kendisi bir zeitgeber değil, daha çok merkezi saatin bir çıktısı ve ayrıca ışık gibi zeitgeberlere yanıt verme modülatörüdür (Burgess, 2010; Pickel ve Sung, 2020).

Sirkadiyen ritim bozulması, obezite (Turek vd., 2005; Paschos vd., 2012; Hutchison vd., 2017; Froy ve Garaulet, 2018), Tip 2 Diabetes Mellitus (Pan vd., 2011)

gibi metabolik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar (Takeda ve Maemura, 2011; Morris vd., 2016) uyku bozuklukları (Patke vd., 2017; Ma vd., 2019), psikiyatrik bozukluklar (Luik vd., 2015; Nguyen vd., 2019; Palagini vd., 2019) ve nörodejeneratif hastalıklar (Gu vd., 2015; Wu vd., 2019; Leng vd., 2020) gibi çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca sirkadiyen ritim bozulması nöroendokrin, immün, metabolik ve otonomik işlevi, ayrıca restoratif süreçleri düzenleyen beyin sistemlerinin temel özelliklerini kademeli olarak değiştirebilir (Smolensky vd., 2016). Sirkadiyen ritim bozulmasıyla ilişkili hastalıklar arasında ortak bir özellik, bunların inflamatuvar süreçler tarafından tetiklenmiş veya ilerletilmiş gibi görünmesidir (Voigt vd., 2016).

2.5. Sirkadiyen Ritim Bozukluklarında Terapötik Yaklaşımlar

Sirkadiyen ritim çalışmaları son yıllarda artmasına rağmen, kronobiyolojik ilkelerin klinik tıbbı ve daha spesifik olarak terapötik tıbbı uygulanması hala gelişme aşamasındadır. Uyku/uyanıklık döngüsü, insanlar da dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinde sirkadiyen saatin işlevini güvenilir bir şekilde yansıtır (Foster, 2020). İnsan çalışmalarında sirkadiyen senkronizasyon sisteminin bir belirteci olarak uyku-uyanıklık döngüsü kullanılır (Zaki vd., 2018).

2.5.1. Işık Tedavisi

Sirkadiyen ritimlerin ışığa maruz kalmayla sürüklendiği bilindiğinden, uyku ve sirkadiyen ritim bozukluklarına terapötik bir yaklaşım olarak ışığa maruz kalmanın, kontrollü ortamlarda sirkadiyen ritimlerin zamanlamasını değiştirmek için kullanılabileceği ve ışık müdahalelerinin uykuyu iyileştirme potansiyeli gösterdiği bilinmektedir (van Maanen vd., 2016). Işık müdahalelerinde genellikle ışıklı kutular, ışıklı siperlikler veya mavi ışığı engelleyen gözlükler gibi bir dizi özel cihaz kullanılır (Faulkner vd., 2020). Neredeyse tümü sirkadiyen ritim bozulmasıyla ilişkili durumlar olan metabolik bozuklukların, ağrı yönetiminin ve depresif bozuklukların tedavisinde ışık tedavisi yararlı olmuştur (Erren ve Reiter, 2009). Genellikle sabahları 1-3 saat geniş spektrumlu parlak ışığa (2.000–10.000 lux) maruz bırakılarak yürütülen parlak ışık tedavisinin, uyku veya mevsimsel afektif bozukluğu olan hastalarda uyku-uyanıklık döngülerini, ruh halini ve bilişsel işlevleri iyileştirebildiği görülmüştür (Barion ve Zee, 2007; LeGates vd., 2014; Faulkner vd., 2019). Işık tedavisi gibi güvenli, non-invaziv kronoterapötik müdahaleler, sirkadiyen ritmikliğinin

korunmasında ve yeniden senkronize edilmesinde etkili olabilir ve kısa ve uzun vadeli sonuçları iyileştirebilir (Ruan vd., 2021).

2.5.2. Melatonin Takviyesi

Sirkadiyen ritim bozukluğu ve zayıf uyku genellikle melatonin üretimindeki azalmayla (veya uygun ritmik melatonin üretiminin kaybıyla) ilişkilendirilir. Ratlarda eksojen melatonin tedavisinin, aktivite ve dinlenme döngülerini etkileyebileceği, sirkadiyen fazı değiştirebileceği ve sirkadiyen ritimleri senkronize edebileceği görülmüştür (Arendt ve Skene, 2005). Farklı zaman pencerelerinde melatonin suprafizyolojik dozlarının farmakolojik uygulamasının sirkadiyen saatin fazını değiştirdiği ve potansiyel olarak uykuyu artırdığı görülmüştür. Sirkadiyen yanıtın duyarlılığı ve yönü günün saatlerine göre değiştiğinden, bu bozuklukların tedavisinde uygulama zamanlaması ve sistemik maruziyet süresi dikkate alınmalıdır (Williams vd., 2016).

2.5.3. Zaman Kısıtlamalı Beslenme

Sirkadiyen ritimler ile besin metabolizması arasındaki karşılıklı ilişki, günlük yeme düzeninin sirkadiyen ritimlerin genliğini ve fazını etkileyebileceğini düşündürmektedir (Asher ve Sassone-Corsi, 2015). Aralıklı oruç, periyodik oruç ve zaman kısıtlamalı beslenme dahil olmak üzere, sıklıkla birlikte düşünülen oruç ile ilgili çeşitli yeme kalıpları vardır. Zaman kısıtlamalı beslenme, enerji kısıtlaması gerektirmeyen bir beslenme modelidir (Manoogian ve Panda, 2017). Zaman kısıtlamalı beslenme, yiyeceğe erişim zamanlamasının sirkadiyen ritimler üzerindeki rolünü incelemek için sıklıkla kullanılan bir terimdir. Yapılan çalışmalarda, yiyeceğe erişimin zamanlaması, gündüz veya gece boyunca 2-12 saat arasında herhangi bir zaman aralığında sınırlandırılmış ve yiyeceğe bu zaman kısıtlamalı erişimin, sirkadiyen saat genleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Zaman kısıtlı beslenmenin sirkadiyen ritimler üzerine etkisi, büyük ölçüde hepatik sirkadiyen ritim gen ekspresyonu üzerinde görülmüştür (Hatori vd., 2012). Deney hayvanları üzerine yapılan çalışmalarda zaman kısıtlı beslenmenin, konakçı sirkadiyen ritmini desteklediği görülmüştür (Zarrinpar vd., 2014; Parkar vd., 2019; Schmalte ve Lorentz, 2020). İnsanlarda zaman kısıtlamalı beslenmenin etkinliğini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulsa da kemirgenler üzerinde yapılan araştırmalar, düzenli bir günlük beslenme modelinin sürdürülmesinin, bireyin fizyolojisini optimize etmek ve

hastalık riskini azaltmak üzere sirkadiyen ritimleri düzenlemek için terapötik bir seçenek olduğunu düşündürmektedir (Manoogian ve Panda, 2017; Parkar vd., 2019).

2.6. Mikrobiyota

Mikrobiyota farklı organları (örn. bağırsak, deri, genitoüriner organlar) kolonize eden bakteriler, arkealar, virüsler, mantarlar ve diğer ökaryotları içeren mikroorganizmalar grubudur (Lloyd-Price vd., 2016). Mikrobiyotanın çoğunluğu, 1000'den fazla türden 100 trilyondan fazla bakteri ile bağırsağı, esas olarak kolonu kolonize eder (Kamada vd., 2013). Bağırsak mikrobiyal filumlarında baskın olan türler; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia*'dır ve iki filum *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* bağırsak mikrobiyotasının %90'nını temsil eder (Arumugam vd., 2011). Bağırsak mikrobiyotası, epitel hücreleri, mukus, kommensal bakteriler, bağışıklık hücreleri ve antikordlardan oluşan bir yapı olan bağırsak bariyeri ile gastrointestinal lümen içinde çevrelenir (Vancamelbeke ve Vermeire, 2017). Sağlığın korunması için ideal olan stabil ve çeşitli bir bağırsak mikrobiyotası, konakçı ile sinbiyotik bir ilişkiyi paylaşır. Konakçı, mikrobiyota için besin kaynakları sağlar ve mikrobiyota, bağırsak epitel bariyerinin mukozal bütünlüğüne katkıda bulunur, fizyolojik inflamasyon ve besinler için rekabet oluşturarak patojenlere karşı savunma, konakçı bağışıklık tepkilerinin aktivasyonu, diyet lifinin fermentasyonu, vitamin sentezi, peptit ve proteinlerin metabolizması ve ksenobiyotiklerin metabolizması yoluyla konakçı fizyolojisine katkıda bulunur. (Thaiss vd., 2014; Wang ve Wang 2016; Voigt vd., 2016; Liang ve FitzGerald 2017; Bishehsari ve Keshavarzian, 2019; Ahern ve Maloy, 2020). Mikrobiyota ayrıca serotonin, dopamin, kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), melatonin ve gammaaminobütirik asit (GABA) gibi nörotransmitterlerin, sitokinlerin ve metabolitlerin üretiminde doğrudan yer alır. (Schmalle ve Lorentz, 2020; Wagner-Skacel vd., 2020). Bu metabolitler doğrudan enterik sinir sistemi ve vagus siniri üzerinde etki gösterir ve merkezi sinir sisteminin aktivitesini etkiler (Ridaura ve Belkaid, 2015). Sirkadiyen ritimler gibi, bağırsak mikrobiyotası da çevredeki değişiklikleri sirkadiyen süreçlere bağlar. Memeli bağırsağı, konakçı ve çevre arasındaki en büyük arayüzdür ve çeşitli işlevlerinde sirkadiyen ritimler sergiler (Bishehsari ve Keshavarzian, 2019).

Bağırsak mikrobiyotası, bir dizi fizyolojik süreci manipüle ederek immun, endokrin ve nöral sinyal yolları aracılığıyla; iştah regülasyonu (Fetissov, 2017; Han vd., 2021), enerji hasadı ve metabolizma (Amabebe vd., 2020; Wu vd., 2022), konak bağışıklık sistemini şekillendirme (Rooks ve Garrett, 2016; Pickard vd., 2017) ve konakçı sirkadiyen ritimlerini koruma (Leone vd., 2015; Parkar vd., 2019) gibi özellikleriyle konakçı sağlığına katkıda bulunur. Konağa diğer faydaları arasında lif ve polifenoller dahil olmak üzere diyet bileşenlerinin metabolizması ve biyotransformasyonu, endojen bileşiklerin ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, vitamin biyosentezi, anti-inflamatuar ve immün savunmaların güçlendirilmesi, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi sayılabilir (Koh vd., 2016; Parkar vd., 2019; Sudo, 2019).

2.7. Beyin Bağırsak Mikrobiyota Aksı

Bağırsak-beyin ekseninin anatomik-fizyolojik kanalı, otonom sinir sistemi, enterik sinir sistemi, hormonal (hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini yani HPA) ve hümorale sistemlerin nöral yolları ile temsil edilir (Bistoletti vd., 2020). Vücuttaki birçok farklı işlev, bağırsak mikrobiyotasına atfedilmektedir, bunlardan biri de Merkezi Sinir Sisteminin (MSS) gelişmesi ile bağışıklık tepkisinin modülasyonudur (Castillo-Alvarez ve Marzo-Sola, 2019). MSS, bağırsak-beyin aksının temel bir parçasıdır ve beyinle mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenini aracılığıyla iletişim kurar (Liang vd., 2018). Bağırsak mikrobiyotası; metabolizma, bağırsak homeostazı, bağışıklık gelişimi (Lynch ve Pedersen, 2016) ve beyin gelişim süreçleri (Morais vd., 2021) ile bağlantılıdır. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler veya belirli bakterilere maruziyet, hayvanların MSS'ni modüle edebilir, bu da beyin işleyişinin değişmesine neden olur. Bağırsak bakterilerinin, beyin kimyasını ve gelişimini etkilediği bilinmektedir (Forsythe vd., 2012; Li vd., 2021). MSS ve özellikle beyin; nöronların, hormonların ve sitokinlerin fizyolojik kontrolü yoluyla bağırsak ekosistemi ile çift yönlü bir iletişim gösterir (Collins vd., 2012; Liu vd., 2015). Ayrıca, aynı yol, MSS'ye, metabolitler veya nörotransmitter üretimi yoluyla bağırsak mikrobiyota adaptasyonlarının geri bildirimini sağlar (Ojeda vd., 2021).

Buna paralel olarak, beynin bağırsakla iletişim kurduğu başka bir yol da hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) eksenidir (Mayer vd., 2011). Çekirdek stres yanıt sistemi olarak kabul edilen HPA eksenini, bağırsak mikrobiyotasını modüle etmek için

endokrin hormonların salınımını düzenler (Cheng vd., 2022). Psikolojik veya fizyolojik stresin neden olduğu HPA ekseninin düzensizliği, bağırsak mukozal geçirgenliğini artırarak ve bağırsak bağışıklığını aktive ederek bağırsak florasının dengesini bozabilir (Tian vd., 2022). Bağırsak mikrobiyotası, metabolitleri aracılığıyla, nöral, endokrin ve bağışıklık yollarıyla MSS ile iletişim kurabilir (Collins vd., 2012).

Beyinden gelen sinyaller gastrointestinal sistemin motor, duysal ve salgılama mekanizmalarını etkileyebilir ve buna karşılık bağırsaktan gelen visseral sinyaller de beyin işlevini etkileyebilir (Grenham vd., 2011). Bu çift yönlü iletişim, bağırsak mikrobiyota metabolitleri (örneğin, KZYA ve safra asitleri), bağırsak bariyeri bütünlüğü, nörotransmitterlerin üretimi veya ifadesi, enterik duyu afferentlerinin modülasyonu ve immün düzenleme dahil olmak üzere birçok kanal aracılığıyla gerçekleşebilir (Burokas vd., 2017; Cussotto vd., 2018). Beyin-bağırsak-mikrobiyota etkileşiminin kanıtı, mikroorganizmasız (germ-free) hayvan modelleri, antibiyotikler, probiyotikler, MSS bozuklukları ile disbiyoz ve fonksiyonel gastrointestinal sistem bozuklukları içeren çeşitli çalışmalardan gelmektedir (Clapp vd., 2017).

2.8. Mikrobiyotayı Etkileyen Faktörler

Diyet, bağırsaktaki mikrobiyal toplulukların şekillendirilmesinde önemli bir faktördür ve diyet modelindeki değişiklikler, bağırsaktaki makro ve mikro besinlerin mevcudiyeti yoluyla bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve işlevselliğini doğrudan etkileyebilir (Gubert vd., 2020). Besin lifleri, diyetten türetilen polifenoller ve vitaminler seçilen bakteri popülasyonlarının büyümesini etkiler (Biesalski, 2016; Van Hul ve Cani, 2019). Diyet bileşimi, bakteri bileşimi, işlevi ve diyet bileşenleri arasındaki çift yönlü bir ilişki içinde bağırsak mikrobiyotasını sürekli olarak şekillendirir. Bağırsak mikrobiyotasına büyük ölçüde iki temel filum, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* hâkim olsa da bunların nispi bolluğundaki kaymalar ve değişen beslenme nedeniyle daha az bulunan filumlar konak bağışıklığını ve metabolizmasını etkileyebilir (Rinninella vd., 2019). Çalışmalar lif açısından zengin gıdaların, genel olarak anti inflamatuvar bir ortamı destekleyen *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium* ve *Akkermansia* dahil olmak üzere çeşitlilik açısından zengin bir bağırsak mikrobiyal topluluğu oluşturduğunu göstermiştir (Hiel vd., 2019). Fazla miktarda hayvansal protein, doymuş yağ, şeker ve tuz alımının yararlı

bakterilerin aksine patojenik bakterilerin büyümesini uyararak bağırsak bariyerinde potansiyel değişikliklere yol açtığı görülürken, kompleks polisakkaritlerin ve bitkisel protein tüketimi, KZYA üretimini uyararak faydalı bakteri miktarının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Zhang, 2022). Ayrıca, omega-3 ve polifenollerin bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu yoluyla sağlık yararları sağlama potansiyeline sahip olduğu görülmektedir (Watson vd., 2018). Diyet alışkanlıkları, bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu güçlü bir şekilde etkileyebilir. Yüksek yağlı diyet, filum ve cins açısından bağırsak mikrobiyal çeşitliliğini azaltabilir ve bu da disbiyoz, bariyer işlevinde ve geçirgenlikte değişikliğe yol açabilir (Rinninella vd., 2019).

Diyet, bağırsak mikrobiyotasının birincil itici gücü olsa da beslenmenin zamanlaması ve açlık ritimleri, aydınlık-karanlık döngüsünün herhangi bir aşamasında beslenen farelerde bağırsak bakteri taksonunda görülen ritmik yükselişi ve düşüşü de etkiler (Thaiss vd., 2014). Fare bağırsak mikrobiyotası bakterileri, mikrobiyota yapısında, işlevinde, üretilen metabolitlerde, kolonizasyonda ve/veya konakçı hücrelerin istilasında sirkadiyen salınımlar gösterir (Thaiss vd., 2016).

2.9. Disbiyozis

Diyet, yaş, antibiyotik tüketimi ve yaşam tarzı gibi faktörler, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve işlevini değiştirebilir (Serino vd., 2014; Redondo-Useros vd., 2020). Bağırsak mikrobiyotasındaki bu değişiklik, bağırsak disbiyozu olarak adlandırılır ve tipik olarak patojenlerin çoğalması, çeşitlilik ve konakçı ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki kommensal homeostazın bozulmasıyla karakterize edilir (Levy vd., 2017). Bağırsak disbiyozu sadece gastrointestinal sistemin patolojilerinde değil, aynı zamanda bağırsak dışı organlardan kaynaklanan hastalıklarda da rol oynar (Levy vd., 2017). Bağırsak disbiyozu, inflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok patolojik durumla ilişkilidir (Ackermann vd., 2015; Westfall vd., 2017; Shehata vd., 2022). Bağırsak mikrobiyota bileşimindeki disbiyozis, beyne gönderilen ve daha sonra gelişmiş hücresel dejenerasyon, düşük dereceli iltihaplanma, artan oksidatif stres ve bozulmuş enerji metabolizması olarak ortaya çıkan sinyallere yol açar (Noble vd., 2017). Bağırsak disbiyozu, bağırsak mukozasında proinflamatuvar sonuçlara sebep olabilir, ek olarak bu faktörler bağışıklık fonksiyonunu değiştirebilir (Lobionda vd., 2019). Disbiyotik bir durumda, patojenik bakteriler proinflamatuvar

metabolitler, deoksikolik ve litokolik asit gibi zararlı sekonder safra asitleri ve hidrojen sülfid üretirler ve bunların tümü bağırsak epitelindeki inflamatuvar durumların şiddetlenmesine katkıda bulunur (Rath vd., 2018). Değiştirilmiş mikrobiyota, zararlı metabolitler aracılığıyla bağışıklık sistemi ile iletişim kurabilir ve etkileşime girebilir, böylece kan dolaşımına giren ve beyin, akciğerler, kalp ve deri gibi uzak organlara ulaşan proinflamatuvar hücrelerin, sitokinlerin ve metabolitlerin sayısını artırır (Varela-Trinidad vd., 2022).

2.10. Bağırsak Bariyeri

Bağırsak bariyeri, bağırsak mikrobiyotası, bir mukus tabakası, bağırsak epitel hücreleri (IEC'ler) ve lamina propria şeklinde düzenlenmiş işlevsel bir birimdir (Takiishi vd., 2017). IEC'ler, maddelerin bağırsak lümeninden dışarı sızmasını önlemek için fiziksel bir bariyer sağlar (Vancamelbeke ve Vermeire, 2017). Fiziksel bir bariyer, sıkı bağlantılar (TJ'ler), yapışık bağlantılar ve desmozomlarla kapatılan IEC'lerden oluşur (Sturgeon ve Fasano, 2016). Enterositlerin yan kısımlarında bulunan TJ'ler, lümen yüzeyine yakın bitişik epitel hücrelerini kapatan ve böylece lümen antijenlerinin paraselüler taşınmasını önleyen karmaşık bir mimariye sahip dinamik yapılardır (Alizadeh vd., 2022). TJ proteinleri, hücrenin apikal-lateral zarında lineer bir bariyer oluşturur ve okludin, claudinler, bağlantı adezyon molekülleri ve triselülinden oluşur (Buckley ve Turner, 2018). Zonula occludens proteinleri, cingulin ve afadin dahil olmak üzere sitoplazmik iskele proteinleri, transmembran TJ proteinleri ve hücre içi hücre iskeleti arasında doğrudan bir bağlantı sağlar (Suzuki, 2020). Hücre iskeleti, TJ tabanlı bütünlüğün düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. TJ'nin bozulmuş bir işlevi, spesifik patojenlerin yokluğunda bile, bağırsak bariyerinin işlev bozukluğuna yol açar ve mikrobiyal metabolitlerin artan geçirgenliği ile ilişkilidir (Alizadeh vd., 2022).

Mikrobiyota, komensal bakterilerin bağırsak mukozasına yapışması ve ek bir koruyucu tabaka oluşturması yoluyla bağırsak bariyeri bütünlüğünde ve işlevinde önemli bir rol oynar (Alam ve Neish, 2018). Bağırsak mikrobiyotası, bağırsak bariyerinin gelişimini ve işlevini, epitel hücre proliferasyonunu destekleyerek, sıkı bağlantı proteinlerinin translokasyonu yoluyla epitel hücre bütünlüğünü artırarak ve desmozom bakımında yer alan gen ekspresyonunu düzenleyerek farklı şekillerde düzenleyebilir (Jandhyala vd., 2015).

2.10.1. Bağırsak Bariyer Geçirgenliği ve Zonulin

Bağırsak epitelinin geçirgenliği ve bariyer işlevi, hücreler arası TJ'nin düzenlenmesine bağlıdır. Diğer faktörlerin yanı sıra bağırsak geçirgenliği, ZO-1 proteininin TJ protein kompleksinden zonula okludens toksini (Zot veya zonulin) aracılı ayrılmasıyla düzenlenir (Serek ve Oleksy-Wawrzyniak, 2021). Bağırsak bariyeri, su ve elektrolit kaybını ve antijen ve mikroorganizmaların vücuda girişini engeller, konakçı ve çevre arasında molekül alışverişine ve diyetteki besinlerin emilimine izin verir (Brandtzaeg, 2011).

GİS, diyet antijenleri ve mikrobiyom ile sürekli temas halindedir ve bağırsak bariyeri, bu potansiyel olarak proinflamatuvar içeriklerin bağırsak mukozasına nüfuz etmesini ve iltihaplanmaya neden olmasını önler. Bağırsak bariyerinin işlev bozukluğu (yani bağırsak sızıntısı), GİS kanalındakiler de dahil olmak üzere enflamasyon aracılı hastalıkları teşvik edebilir veya şiddetlendirebilir (Voigt vd., 2019). Bağırsak yolunun geçirgenliği, sindirilmeyen maddelere ek olarak, besinlerin alımını ve bakteri ve ksenobiyotikler gibi istenmeyen hücre dışı maddelerin taşınmasını kontrol eder. Bağırsak geçirgenliği, bağırsak mikrobiyotası, sindirim salgıları, fiziksel engeller (müsin, bağırsak epitel hücreleri ve sıkı bağlantılar) ve sitokinler gibi kimyasallar tarafından kontrol edilir (Bischoff vd., 2014).

Zonulin (pre-haptoglobin-2), ZO-1 ve okludin'i birleşme kompleksinden ayırarak endotelial ve epitelyal geçirgenliği düzenleyen bir protein olarak tanımlanır (Fasano, 2012; Sturgeon ve Fasano, 2016). Zonulin, diyet veya mikrobiyotadan gelen uyarınları takiben bağırsak epitel hücreleri tarafından salgılanır ve hem kan hem de dışkı örneklerinde ölçülebilen bağırsak geçirgenliğinin bir biyolojik belirteci olarak gösterilmektedir (Fasano vd., 2000). Zonulin salınımını uyaran bağırsak lümen etkenleri arasında, disbiyozis ve glutene maruz kalma, en güçlü iki tetikleyici olarak tanımlanmıştır (El Asmar vd., 2002; Drago vd., 2006). Artan serum zonulin seviyelerine, sızdıran bir bağırsak bariyeri, disbiyoz ve inflamasyon eşlik etmektedir (Fasano, 2012; Serek ve Oleksy-Wawrzyniak, 2021).

2.11. Sirkadiyen Ritim ve Bağırsak Geçirgenliği

Bağırsak bariyeri, sirkadiyen kontrol altındaki bir başka önemli GİS işlevidir. Okludin ve claudin-1 gibi bağırsak bariyerini oluşturan sıkı bağlantıların kolon epitelinde sirkadiyen varyasyonlar gösterdiği gösterilmiştir (Butler ve Gibbs, 2020).

Yapılan bir çalışmada mutant bir Clock genine sahip farelerin sağlıklı farelere kıyasla artmış bağırsak geçirgenliğine sahip olduğu görülmüştür, bu da bağırsak bariyeri bütünlüğünü korumak için uygun sirkadiyen işleyişin gerekli olduğunu düşündürür. Bağırsak inflamatuvar hastalığını taklit eden bu çalışmada, değiştirilmiş sirkadiyen ritim modelinin bağırsak bariyer geçirgenliğini artırdığı ve alkolün de tetiklediği bağırsak bariyer geçirgenliğini şiddetlendirdiği bulunmuştur (Summa vd., 2013). Bir başka çalışmada, sirkadiyen ritimleri devamlı aydınlıkta barınma modeli oluşturularak bozulmuş farelerde, TJ proteinlerinin değiştirilmiş ekspresyonu ile ilişkili bağırsak bariyeri geçirgenliğinde artış yaşandığı görülmüştür (Eum vd., 2022). Aydınlık/karanlık döngülerinin değiştirilmesiyle sirkadiyen ritimleri bozulmuş fareler üzerine yapılan başka bir çalışmada, sirkadiyen ritim bozulması, ağırlık artışı ve artmış bağırsak geçirgenliği ile ilişkilendirilmiştir (Khalyfa vd., 2017).

2.12. Sirkadiyen Ritim ve Mikrobiyota İlişkisi

Konak sirkadiyen ritimleri, beslenme, metabolik sinyaller ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki çok yönlü etkileşimler konakçıda metabolik homeostazı düzenleyen karmaşık bir ağ oluşturur (Gutierrez Lopez vd., 2021). Konakçı sirkadiyen ritmikliği, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve aktivitesini değiştirebilir ve tersine, bağırsak mikrobiyotası da konağı etkileyebilir (Parkar vd., 2019; Frazier ve Chang, 2020).

Bağırsak mikrobiyotası hem belirli bakterilerin bolluğunda hem de bakteriyel fonksiyonlarda (örneğin; enerji üretimi, DNA onarımı) günlük farklılıklar gösterir (Leone vd., 2015; Liang vd., 2015). Farelerde ve insanlarda bağırsak mikrobiyotasının, beslenme ritimlerinden etkilenen sirkadiyen salınımlar sergilediği, bunun sonucunda günün belirli saatlerinde bileşimsel ve fonksiyonel özelliklere yol açtığı ve sirkadiyen ritimdeki bozuklukların bağırsağı etkileyebildiği bulunmuştur (Marcinkevicius ve Shirasu-Hiza, 2015; Teichman vd., 2020). Farelerdeki bakteri yükü gececi hayvanlarda aktif faz olan saat 23:00'te *Bacterioidetes* popülasyonunda zirveye ulaşır ve *Firmicutes* popülasyonunda sabah 07:00'de (dinlenme fazı) düşüşe geçer (Leone vd., 2015; Liang vd., 2015; Zarrinpar vd., 2014).

Birçok çalışma, sirkadiyen ritim bozulmasının bağırsak mikrobiyotasında değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Sirkadiyen bozulma, gece vardiyasındaki bireylerde *Bacteroidetes*'in nispi bolluğunu azaltmıştır (Mortaş vd., 2020). Bmal1,

CLOCK, Per1/2 dahil olmak üzere temel sirkadiyen ritim genleri mutant farelerde mikrobiyal ritmikliğin ve kompozisyonun bozulduğu görülmüştür (Thaiss vd., 2014; Liang vd., 2015; Voigt vd., 2016). Bowers vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, sirkadiyen ritimleri bozulmuş farelerde dışkı mikrobiyomlarını incelenmiş, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* kaybı görülmüştür (Bowers vd., 2020). Thaiss vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada jet lag olan insanların bağırsak mikrobiyotası germ free farelere aktarıldığında, bunun obezite ve glikoz intoleransı ile sonuçlandığını gözlenmiştir. Bu çalışmalar, konakçı sirkadiyen mekanizmasının mikrobiyal salınımları ve bileşimi etkilediğini göstermektedir; bununla birlikte, karşılıklı olarak, mikrobiyota konak sirkadiyen ritimlerini modüle edebilmektedir. Germ Free farelerle yapılan bir çalışmada, mikrobiyotanın karaciğer hepatositlerinde konakçı sirkadiyen ritimlerini indüklediğini görülmüştür (Leone vd., 2015). Poroyko vd. (2016) çalışmasında farelerde uyku rutininin sürekli olarak bozulmasının, gıda alımında artışa yol açabileceğini ve mikrobiyotada değişiklikler oluşturabileceğini görülmüştür. Bu değişiklikler, sistemik inflamasyona ve muhtemelen bağırsak bariyer geçirgenliğinin artışına bağlı olarak insülin duyarlılığında değişikliklere yol açmıştır.

2.13. Probiyotikler

Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Birliği (ISAPP) uzmanlarından oluşan bir panel, probiyotikleri resmi olarak “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır (Hill vd., 2014). Probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasına faydası, daha uygun bir GİS ortamı yaratma ve konakçı bağışıklık sisteminin düzgün çalışmasını sağlama yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Başlıca *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının yanı sıra bazı *Streptococcus* ve *Enterococcus* suşlarını içeren probiyotikler, bağırsak epitel bütünlüğünü artırabilir, bağırsak bariyeri yıkımını önleyebilir, mukozal bağışıklık sistemini düzenleyebilir, bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek, mikrobiyal toplulukları stabilize ederek ve bağırsak ortamını zararlı metabolitlerin aşırı üretiminden kurtararak bağırsak mikrobiyal disbiyozunu düzeltebilir (Yang vd., 2021; Thangaleela vd., 2022).

Yapılan bir klinik çalışmada, sağlıklı üniversite öğrencilerine probiyotik uygulamasının, Pittsburgh Uyku Kalite İndeksi (PSQI) skorundaki değişikliklerle ölçüldüğü üzere uyku kalitesini önemli ölçüde iyileştirdiği bulunmuştur (Nishida vd.,

2017). Başka bir çalışmada, 11 haftalık probiyotik tüketiminden üniversite öğrencilerinin uyku kalitesinde iyileşme olduğu görülmüştür (Takada vd., 2017). *Lactobacillus helveticus* veya plasebo alan deneklerde yapılan bir çalışmada, plasebo grubuna kıyasla müdahale grubunda uyku etkinliğinin önemli ölçüde arttığını bulunmuştur (Nakagawa vd., 2018). Başka bir araştırma, *Limosilactobacillus fermentum*, *L. rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum* ve *Bifidobacterium longum* içeren çok türlü bir probiyotik takviyesinin, PSQI puanı sonucuyla müdahale grubu için başlangıca kıyasla uyku kalitesinde artışa katkısının olduğunu gözlemlemişlerdir (Marotta vd., 2019)

Probiyotik kullanımı ile uyku kalitesindeki arasındaki ilişkinin, bazı bakterilerin anti-inflamatuar etkilerinden veya HPA eksenini aktivitesini azaltma kapasitelerinden kaynaklanladığı düşünülmektedir (Dinan vd., 2013; Matenchuk vd., 2020).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Amaç

Bu çalışmada aydınlık ve karanlık döngüleri her iki haftada bir değiştirilerek sirkadiyen ritimleri bozulmuş farelerde probiyotik takviyesinin; merkezi sirkadiyen ritim gen ekspresyonları ve serum zonulin düzeyi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

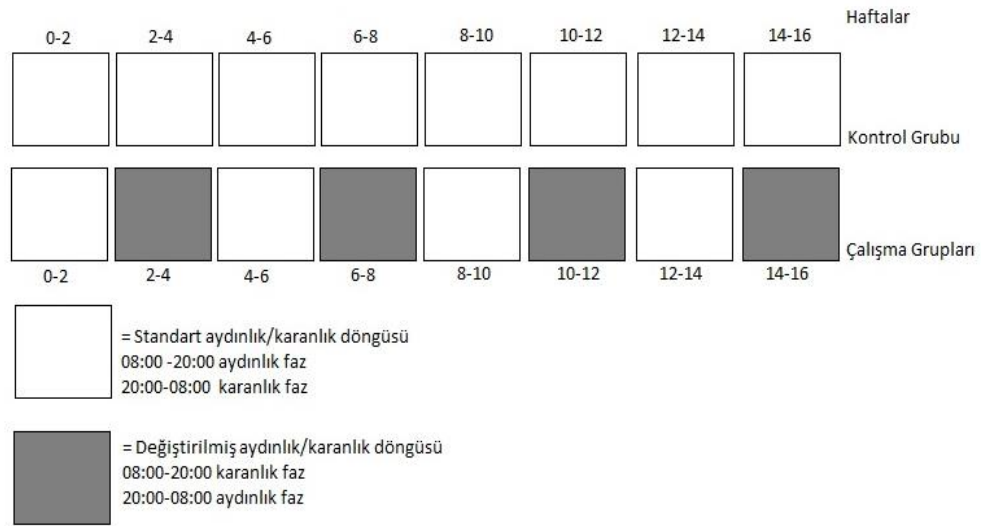
Bu çalışmada bu çalışma için, deney hayvanı olarak 8-10 haftalık BALB/c cinsi erkek fareler kullanılmıştır. Fareler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş ve araştırma bu merkezde gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması için gerekli olan etik kurul onayına ait Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 27/07/2021 tarih ve E-68489742-604.01.03-97230 sayılı kararı Ek-1'de verilmiştir.

Çalışma için her biri 8 fareden oluşan 3 farklı deney hayvanı grubu oluşturulmuştur. Birinci grup kontrol grubu; ikinci çalışma grubu, sirkadiyen ritimleri aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmuş grup (BSR) ve üçüncü çalışma grubu sirkadiyen ritimleri aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmuş ve çalışmanın son iki ayında probiyotik takviyesi verilecek grup (Probiyotik+BSR) olacak şekilde gruplar düzenlenmiştir. Çalışma gruplarındaki deney hayvanlarına tekli kafes sağlanmıştır. Üç deney hayvanı grubu da tüm çalışma boyunca standart yem ile ad libitum olarak beslenmişlerdir. Sirkadiyen ritimleri değiştirilecek olan 2 grubun kalacağı oda çalışmaya başlanılmadan önce pencereleri siyah bantlarla ve ışık geçirmez perdeyle kaplanarak tamamen karanlık odaya dönüştürülmüştür. Çalışma başlamadan önce odaya özel elektrik saati alınmış ve aydınlık-karanlık döngüsü her iki haftada bir tersine dönecek şekilde ayarlanmıştır. Sirkadiyen ritimleri değiştirilmiş ve probiyotik takviyesi alacak gruba her çalışma günü gavaj yoluyla probiyotik verilmiştir. Üç çalışma grubuna çalışmanın başlangıcından sonuna haftalık ağırlık kontrolü yapılmıştır. Bütün gruplarda çalışma sonrasında biyokimyasal ölçümler için hayvanların doğrudan kalbinden alınabilecek maksimum miktarda kan alınmış ve hayvanlar dekapite edilmiştir.

Daha önce yapılmış sirkadiyen ritim çalışmalarına benzer olarak (Cheng vd., 2020; Hu vd., 2022) deney sonunda dokular ve kan örnekleri, günlük döngü boyunca her gruptan ikişer fare olacak şekilde belirlenen zaman aralıklarında altı saatte bir (ZT0, ZT6, ZT12, ZT18) (08:00, 14:00, 20:00, 02:00) (ZT0: Zeitgeber 0 = 08:00, ışıkların açıldığı zaman) toplanmıştır.

Kan örnekleri antikoagulant içermeyen biyokimya tüplerine alınmış ve $3000 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar eppendorf tüplere transfer edilerek analiz basamaklarına kadar -80°C 'de depolanmıştır. Deney hayvanlarının beyin, karaciğer, ince bağırsak ve gaita örnekleri de eppendorf tüplere transfer edilerek analizler yapılncaya kadar -80°C 'de bekletilmek üzere özel dondurucuya konulmuştur.

3.3. Aydınlik/Karanlık Döngüsünün Değiştirilme Protokolü



Şekil 3.1. Aydınlik/Karanlık Döngüsünün Değiştirilme Protokolü

Aydınlik/Karanlık döngüsünün değiştirilme protokolü Khalyfa vd. (2017)'nin çalışmasından uyarlanarak oluşturulmuştur. Normal laboratuvar aydınlık/karanlık döngüsü olan 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü 15. günde tersine çevrilmiş yani 12 saat karanlık 12 saat aydınlık şeklinde devam etmiştir. İlk iki hafta ışıkların açılması 08:00'de, ışıkların kapatılması 20:00'de olmuştur. 15. günün sabahında ışıklar 08:00'de açılmayarak 20:00'e kadar kapalı tutulup, 20:00'de açılmıştır. Karanlık döngünün 08:00'de başlama ve aydınlık döngünün 20:00'de başlama döngüsü 14 gün daha sürdürülerek 29. Günde tekrar tersine çevrilmiştir.

Aydınlık/karanlık döngüleri bu protokollere uygun olarak müdahale gruplarına 16 hafta boyunca her iki haftada bir uygulanmıştır. Kontrol grubundaki fareler çalışma süresince herhangi bir değiştirilmiş aydınlık/karanlık döngüsüne maruz bırakılmamıştır. Aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilmiş çalışma grupları için özel bir oda tahsis edilmiş ve 16 hafta boyunca her iki haftada bir değiştirilen aydınlık/karanlık döngülerine maruz kalmışlardır.

3.4. Probiyotik İçeriği

Çalışmada VSL#3 sticks 10 billion probiyotiği uygulanmıştır. İçindekiler: Stabilizör (Sorbitol (E420)), İnulin, Maltodekstrin, Probiyotik Mikroorganizma (*Streptococcus thermophilus* BT01, *Bifidobacterium breve* BB02, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL03, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI04, *Lactobacillus acidophilus* BA05, *Lactobacillus plantarum* BP06, *Lactobacillus paracasei* BP07, *Lactobacillus helveticus* BD08), Topaklanmayı Önleyici (Magnezyum Stearat (E470b)), Aroma Verici (Krem Karamel Aroması), Tatlandırıcı (Sukraloz (E955)) şeklindedir.

Probiyotikler her çalışma günü laboratuvar şartlarında özel olarak hazırlanmıştır. Probiyotikler referans makale örnek alınarak gavaj yoluyla verilmiştir (Kumar vd., 2017).

3.5. Serum Örneklerinde Zonulin Düzeyinin Belirlenmesi

Bütün gruplarda 16 haftalık deney sonrasında biyokimyasal ölçümler için hayvanların doğrudan kalbinden maksimum miktarda kan alınmış ve sonrasında hayvanlar dekapite edilmiştir. Kan örnekleri antikoagulant içermeyen biyokimya tüplerine transfer edilmiş ve $3000 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplere alınıp çalışmanın analiz basamağına kadar – 80 °C'de saklanmıştır. Serum örneklerinde zonulin düzeyleri 'sandwich enzyme-linked immune sorbent assay' (ELISA) yöntemi ile 'Mouse Zonulin ELISA' kiti kullanılarak tayin edilmiştir.

3.6. RNA İzolasyonu ve Kantitatif RT-PCR

Deney sonunda dokular (ZT0: Zeitgeber 0 = 08:00, ışıkların açıldığı zaman), günlük döngü boyunca her gruptan ikişer fare olacak şekilde, belirlenen zaman aralıklarında altı saatte bir (ZT0, ZT6, ZT12, ZT18) toplanmıştır. Tüm numuneler

dondurulup ve -80 ° C'de saklanmıştır. Üreticinin talimatları izlenerek TRIzol reaktifi (Invitrogen, ABD) kullanılarak beyin dokusundan toplam RNA ekstrakte edilmiştir. RNA örnekleri spektrofotometre kullanılarak ölçülmüş ve üreticinin protokolüne göre kit kullanılarak cDNA'ya ters transkripsiyon yapılmıştır. Gerçek zamanlı kantitatif PCR, daha önce yayınlanmış primerler kullanılarak RT-PCR Sistemlerinde kit protokolüne göre gerçekleştirilmiştir.

Delta-Delta ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) metodu referans gen olan GAPDH'ye normalleştirilmiş hedef genlerin ekspresyonlarını analiz etmek için kullanılmıştır.

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ Microsoft 365 Excel programı ile hesaplanmıştır.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-(\Delta\Delta Ct \text{ örnek} - \Delta\Delta Ct \text{ kontrol})}$$

$$\Delta Ct (\text{örnek}) = Ct \text{ hedef gen} - Ct \text{ referans gen}$$

$$\Delta Ct (\text{kontrol}) = Ct \text{ hedef gen} - Ct \text{ referans gen}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{örnek}) - \Delta Ct (\text{kontrol})$$

3.7. Primer Dizimleri

Gerçek Zamanlı PCR için Primer Dizileri

CLOCK
F: 5'-CACAGGCCAGCACATGAT-3' (Hsieh vd., 2010)
R: 5'-CACTCATTACACTCTGTTGACTCTGA-3'
PER2
F: 5'-GTTCCAGGCTGTGGATGAA-3' (Hsieh vd., 2010)
R: 5'-GGCGTCTCGATCAGATCCT-3'
BMAL1
F: 5'-ATTCCAGGGGGAACCAGA-3' (Hsieh vd., 2010)
R: 5'-GAAGGTGATGACCCTCTTATCCT-3'
GAPDH
F: 5'-CATCACTGCCACCCAGAAGACTG-3' (Nabokina vd., 2014)
R: 5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG-3'

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler GraphPad Prism v9.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Veriler ortalama $\pm$ SEM ve ortalama $\pm$ SD olarak ifade edilmiştir. Probiyotik ve sirkadiyen ritim değiştirilme etkilerinin istatistiksel önemi, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından çoklu karşılaştırma durumunda Bonferroni düzeltmesi veya $p < 0.05$ 'te eşleştirilmemiş iki kuyruklu Student t testi ile

belirlenmiştir. Başlangıç, 8. Hafta ve 16. Hafta zaman dilimleri ve vücut ağırlığı sonuçlarındaki değişim iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri altında bulunan değerler anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmada, 24 erkek fare kullanılmış ve kontrol grubu, sirkadiyen ritimleri bozulmuş fareler (BSR) ve probiyotik takviyesi alan sirkadiyen ritimleri bozulmuş fare grupları olarak ayrılmıştır (Probiyotik+BSR). Tüm gruplar standart diyetle toplam 16 hafta boyunca beslenmiştir.

Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında yer alan farelere ait başlangıç, 8. hafta ve 16. Hafta (son) ağırlıkları Tablo 1’de gösterilmiştir.

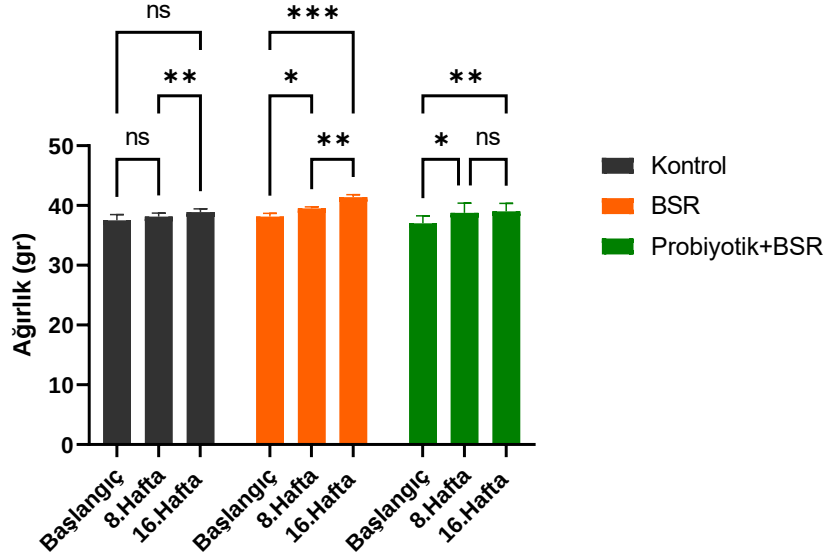
Tablo 4.1. Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarına ait Başlangıç, 8. hafta ve Son vücut ağırlıkları

		Probiyotik+BSR		
		Kontrol (n=8)	BSR (n=8)	(n=8)
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Vücut Ağırlığı (g)				
	Başlangıç	37,5±2,7	38,1±1,5	37,0±3,5
	8. Hafta	38,1±1,7	39,5±0,7	38,7±4,6
	16. Hafta	38,8±1,5	41,3±1,1	39,0±3,8

^a: Kontrol grubuna göre fark $p<0,05$, ^b : BSR grubuna göre fark $p<0,05$, ^c : Probiyotik+BSR grubuna göre fark $p<0,05$

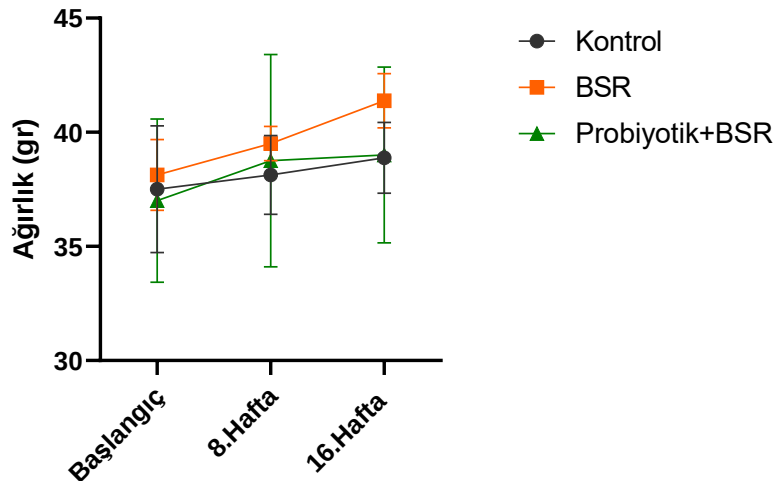
Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR’ de yer alan farelerin başlangıç ağırlıkları ortalamaları sırasıyla 37,5±2,77 g; 38,12±1,55 g ve 37,00±3,58 g’dır. Gruplarda yer alan fareler ait 8. Hafta ağırlık ortalamaları ise Kontrol grubunda 38,1±1,7 g, BSR grubunda 39,5±0,7 g, Probiyotik+BSR grubunda 38,7±4,6 g şeklindedir. Son ağırlık ortalamaları ise Kontrol grubunda 38,8±1,5 g, BSR grubunda 41,3±1,1 g, Probiyotik+BSR grubunda 39,0±3,8 g’dır.

Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de Kontrol (n=8), Bozulmuş Sirkadiyen Ritim grubu (BSR) (n=8) ve Probiyotik takviyesi alan bozulmuş sirkadiyen ritim grubunun (Probiyotik+BSR) (n=8) vücut ağırlıkları grafik şeklinde gösterilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak temsil edilmektedir. Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR grupları arasındaki farklılıkları değerlendirmek için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey testi kullanılmıştır. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$



Şekil 4.1. Ağırlık Değişimleri

Kontrol grubunda Başlangıç ve 8. Hafta ($p=0.46$) ve Başlangıç ve 16. Hafta ($p=0.10$) arasında istatistiksel bir anlamlılık yokken 8. Hafta ve 16. Hafta arasında ağırlıkları açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). BSR grubundaki farelerin başlangıç, 8. Hafta ve 16. Hafta arasındaki ağırlıkları açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Probiyotik+BSR grubunda bulunan farelerin Başlangıç ve 8. Hafta arasındaki ağırlık değişimi ve Başlangıç ve 16. Hafta arasındaki ağırlık değişimleri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.2. Gruplar Arasındaki Ağırlık Değişimleri

Kontrol ($n=8$), Bozulmuş Sirkadiyen Ritim grubu (BSR) ($n=8$) ve Probiyotik takviyesi alan bozulmuş sirkadiyen ritim grubunun (Probiyotik+BSR) ($n=8$) Vücut ağırlıkları

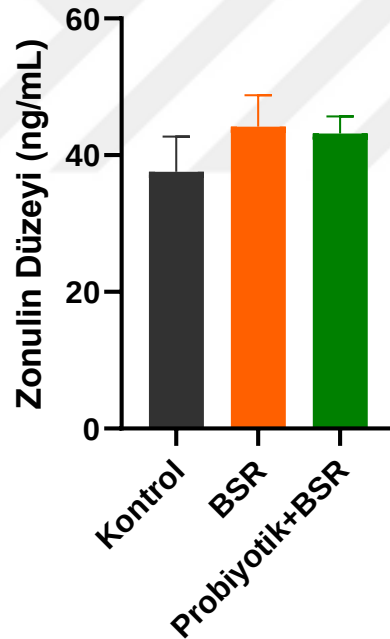
Çalışma kapsamındaki tüm farelerin serum zonulin ölçümleri Tablo 4.2’de özetlenmiştir

Tablo 4.2. Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarına ait serum zonulin ortalama değerleri

Parametreler	Birim	Kontrol (n=8) $\bar{X} \pm SD$	BSR (n=8) $\bar{X} \pm SD$	Probiyotik+BSR (n=8) $\bar{X} \pm SD$
Zonulin	ng/mL	37,56±14,56	44,13±13,00	43,01±7,03

^a: Kontrol grubuna göre fark $p<0,05$, ^b : BSR grubuna göre fark $p<0,05$, ^c : Probiyotik+BSR grubuna göre fark $p<0,05$

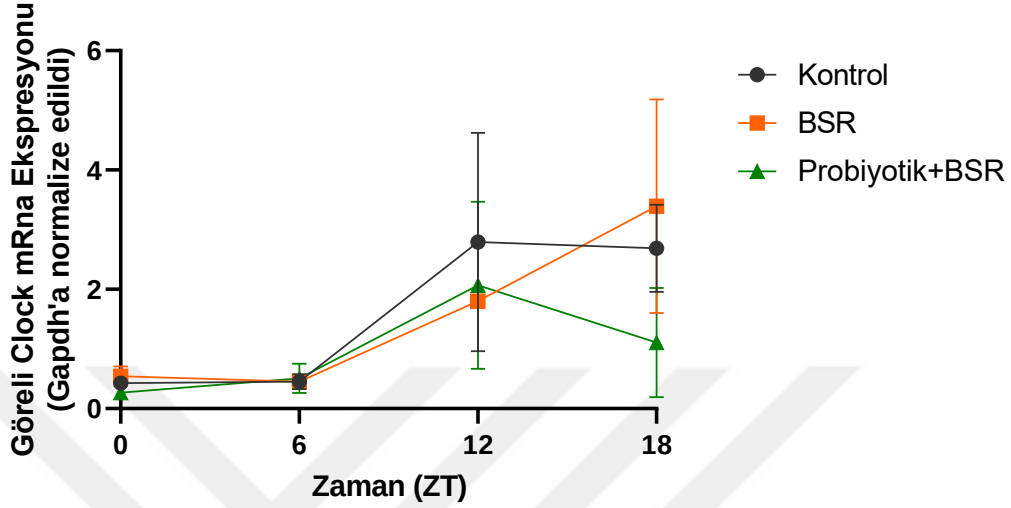
Çalışma gruplarında yer alan farelerin serum zonulin verileri Şekil 4.3’deki grafikte özetlenmiştir.



Şekil 4.3. Serum Zonulin seviyeleri

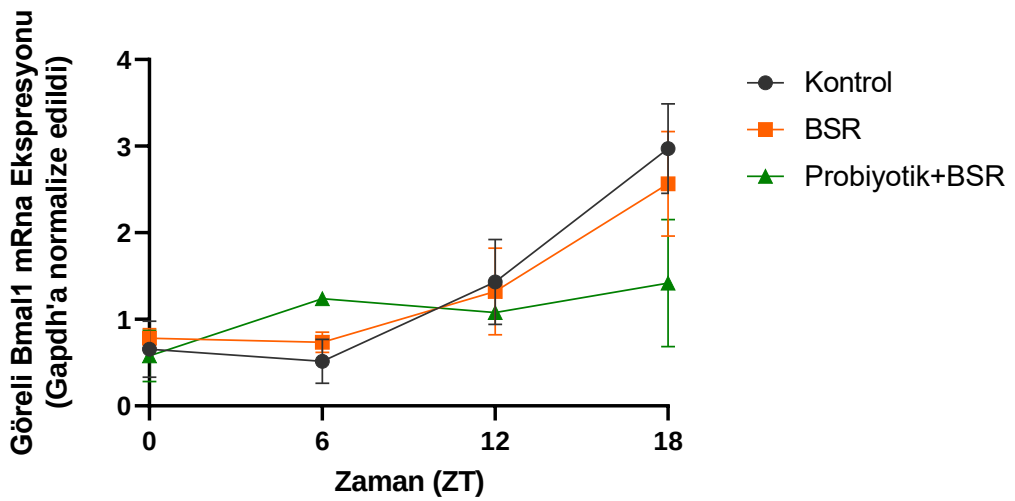
Grupların ortalama zonulin değerleri sırasıyla, 37,56±14,56 ng/mL; 44,13±13,00 ng/mL; 43,01±7,03 ng/mL’dir. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,503$).

Probiyotik müdahalesinin ve değiştirilmiş aydınlık/karanlık döngüsünün neden olduğu sirkadiyen bozulmanın sirkadiyen ritim genleri Clock (Şekil 4.4), Bmal1 (Şekil 4.5), ve Per2'nin ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri (Şekil 4.6) belirlenmiştir.



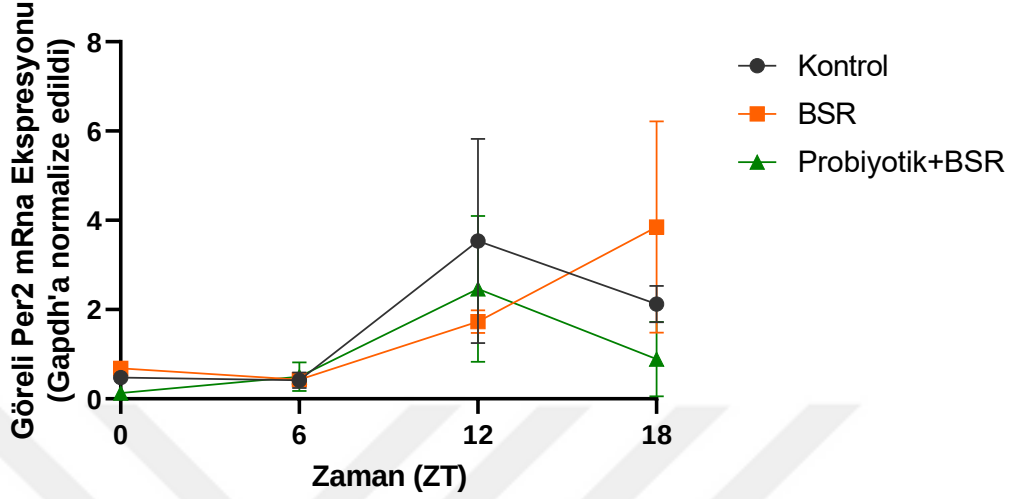
Şekil 4.4. Clock mRNA ekspresyonu seviyeleri

Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında 4 farklı zaman diliminde (ZT0, ZT6, ZT12, ZT18) Clock ekspresyonu seviyeleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.732$). Clock geni ekspresyonu, Kontrol ve Probiyotik+BSR grubunda ZT12 zaman diliminde pik yaparken BSR grubunda ZT18'de pik yapmıştır.



Şekil 4.5. Bmal1 mRNA ekspresyonu seviyeleri

Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında 4 farklı zaman diliminde (ZT0, ZT6, ZT12, ZT18) Bmal1 ekspresyonu seviyeleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.849$).



Şekil 4.6. Per2 mRNA ekspresyonu seviyeleri

Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında 4 farklı zaman diliminde (ZT0, ZT6, ZT12, ZT18) Per2 ekspresyonu seviyeleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.743$). Per2 geni ekspresyonu, Kontrol ve Probiyotik+BSR grubunda ZT12 zaman diliminde pik yaparken BSR grubunda ZT18’de pik yapmıştır.

5. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında, sirkadiyen ritimleri aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek bozulmuş farelerde, sirkadiyen saat genleri olan; Bmal1, Clock ve Per2'nin ekspresyonları incelenmiş ve serum zonulin düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca, aydınlık/karanlık döngüleri değiştirilerek sirkadiyen ritmi bozulan farelerde, probiyotik takviyesinin Bmal1, Clock ve Per2 genlerine ve serum zonulin düzeylerine olan etkisi incelenmiştir.

Sirkadiyen ritimler, sayısız işlevin önemli düzenleyicilerine atıfta bulunan, endojen saatler tarafından yönlendirilen çok sayıda biyolojik sürecin günlük salınımlarıdır (Tian vd., 2022). Beyindeki ana sirkadiyen ritim osilatörü olan SCN, hipotalamusta yer alır ve vücuttaki çeşitli sirkadiyen ritimleri düzenler (Albrecht, 2012). Memelilerde sirkadiyen saat, sirkadiyen bir sistemde hiyerarşik olarak düzenlenmiştir. SCN'nin ritmik çıktısı, beyin ve çevredeki yardımcı sirkadiyen osilatörleri yönetir (Qian ve Scheer, 2016). SCN ve yardımcı osilatörler, her biri saat genlerinin transkripsiyonel/translasyonel geri besleme döngülerinden oluşan moleküler bir saat mekanizması içeren hücrel osilatörlerden oluşur (Voigt vd., 2019; Sciarra vd., 2020). Saat genleri, Clock ve Bmal1 gibi transkripsiyon aktivatörlerinin yanı sıra Per1, Per2, Cry1, Cry2 ve Rev-Erba transkripsiyon baskılayıcılarını kodlar (Ko ve Takahashi, 2006). Temel saat genlerinden Bmal1 mutant farelerde tek bir gendeki fonksiyon kaybının sirkadiyen ritmikliği güçlü bir şekilde etkilediği görülmüştür (Bunger vd., 2000). Aydınlık/karanlık koşulları normal koşullarda olsa (12:12) bile, Bmal1 mutant olan farelerde uzamsal bellek konsolidasyonu ve uyku mimarisi gibi birçok beyin işlevi etkilenmektedir (Laposky vd., 2005). Bu genel beyin fonksiyonu için bu saat geninin/transkripsiyon faktörünün önemini gösterir (von Gall, 2022).

Işık, merkezi saati etkileyen ve periferik saat genlerinin işlevini düzenleyen temel bir çevresel sinyaldir. SCN ana saati, ışık ve aydınlık-karanlık döngüleri ile sıfırlanabilir (Wu vd., 2018). Aydınlık-karanlık döngüsünün bozulmasından sonra sirkadiyen saat gen ekspresyonunun anormal olduğu, normal merkezi ve periferik ritimleri etkilediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Koronowski ve Sassone-Corsi, 2021). Işık, sirkadiyen saatleri düzenleyen ana uyaran olsa da yakın zamanda yapılan çalışmalar, besin türleri ve maddelerinin çeşitli periferik yollar için etkili uyaranlar

olarak işlev görebileceğini göstermiştir (Reinke ve Asher, 2019; Sato ve Sassone-Corsi, 2022; Scoditti ve Garbarino, 2022). Kanıtlar, hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdeğin (SCN), muhtemelen beyin-bağırsak-mikrobiyota eksenini adı verilen beyin-bağırsak etkileşimleri de dahil olmak üzere periferik sirkadiyen ritim genlerinin ekspresyonlarını düzenlediğini doğrulamaktadır ve periferik sinyallerin de merkezi sirkadiyen saati düzenlediği düşünülmektedir (Bass ve Takahashi, 2010; Mohawk vd., 2012; Forsyth vd., 2015).

Hayvan modellerinde kullanılan vardiyalı çalışma ve manipülasyon türleri çok çeşitlidir. Sirkadiyen ritim bozulması modellerinde sürekli ışığa veya sürekli karanlığa maruz bırakılma, aydınlık/karanlık döngülerinin bozulması, sirkadiyen ritim genlerinden bir ya da birkaçının genetik olarak susturulması gibi yöntemler kullanılmaktadır. Aydınlık/karanlık döngülerinin değiştirilmesinde vardiya boyutu (1-12 saat), sıklık (her gün-haftada bir) ve toplam süre bakımından farklılık gösteren çalışmalar vardır (Opperhuizen vd., 2015; Vetter, 2020).

Çalışmamızda standart olan 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsü 4 ay boyunca her iki haftada bir tersine değiştirilerek vardiyalı çalışma modeli Khalyfa vd. (2017) çalışmasından örnek alınarak gerçekleştirilmiştir. Probiyotiklerin sirkadiyen bozulmada terapötik bir seçenek olarak kullanma potansiyelini araştırmanın yanı sıra, bu çalışma değiştirilmiş aydınlık/karanlık döngüsü altında çekirdek saat genlerinin ifadelerindeki değişiklikler hakkında veri sağlar. Bu çalışmada, belirli saat genlerinin mutasyonu yerine çevresel bir faktörden kaynaklanan yanlış hizalamayı incelemek için çevresel temelli bir sirkadiyen bozulma modeli (vardiyalı çalışma) uygulanmıştır. Bunun nedeni, sirkadiyen saat geninin genetik bozulmasından ziyade sirkadiyen bozulmanın esas olarak çevreye atfedildiği çağdaş toplumumuzdaki durumu simüle edebilmesidir. Elde ettiğimiz verilerde, aydınlık/karanlık döngüsünün değiştirilmesinin, kontrol grubuna göre bozulmuş sirkadiyen ritim grubu (BSR) ve probiyotik takviyesi alan bozulmuş sirkadiyen ritim grubunda (Probiyotik+BSR) farklı 4 zaman diliminde Clock, Bmal1 ve Per2 gen ekspresyon düzeyleri arasında farklar görülmüştür fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.732$, $p=0.849$, $p=0.743$). Probiyotik takviyesinin Clock, Bmal1 ve Per2 gen ekspresyonları üzerine etkisinde, özellikle Per2 geninin gen ekspresyonu kontrol grubuna benzer

şekilde düzenlendiği görülmüştür fakat bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.854$).

Gen ekspresyonunun mevcut sonuçları, fareler üzerinde önceki çalışmalarda bildirilenlerle örtüşmektedir (Leone vd., 2015; Cheng vd., 2020; Hu vd., 2022). Üç deney grubu arasındaki karşılaştırma, BSR grubuna kıyasla özellikle ZT18 saatinde Kontrol ve Probiyotik+BSR grubunun arasında benzer Per2 salınım modellerini göstermiştir. Probiyotik takviyesi uygulaması, Per2 gen ekspresyonunda doğal ritmikliğe yaklaştırırken, Clock ve Bmal1 genlerinin ekspresyonunda değiştirilen çekirdek sirkadiyen ritmini doğal bir ritmikliğe yeniden biçimlendirmemiştir.

Sirkadiyen ritim, diğer organların yanı sıra bağırsağın çeşitli fizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Mukherji vd., 2013; Pan vd., 2013). Bağırsak mikrobiyotasının konak metabolizması ve sağlığı üzerindeki etkisi, bileşimi ve işlevi tarafından yönetilir, ancak yaşamı boyunca sabit kalan konak genetiğinin aksine, bağırsak florasının bileşimi ve işlevi değişken ve dinamiktir (Thaiss vd., 2015). Normal bağırsak işlevini sürdürmek, bağırsak bariyeri işlevi sağlamak, bakteriyel yayılımı devreye sokmak ve bozulduğunda çeşitli patofizyolojik sonuçlara yol açabilen inflamasyonu düzenlemek için sirkadiyen ritimler kritik öneme sahiptir (Voigt vd., 2019). Bozulmuş sirkadiyen ritimler, bağırsak ile ilişkili hastalıklarla, bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulması ve proinflamatuvar yanıtlara yakınlıkla ilişkilendirilmiştir (Forsyth vd., 2015; Tran vd., 2015). Clock, Bmal1 ve Per2 dahil olmak üzere çeşitli sirkadiyen saat genleri ve proteinleri, gastrointestinal sistemde ifade edilir ve sindirim, epitelial yenileme ve emilim gibi bağırsak fonksiyonlarıyla bağlantılıdır (Sládek vd., 2007; Teichman vd., 2020). Sirkadiyen ritim düzensizliğinin bağırsak bariyer geçirgenliğine daha yakın hale getirdiği bilinmektedir (Forsyth vd., 2015). Fakat sirkadiyen ritim ile bağırsak bariyeri bütünlüğü arasındaki kesin mekanik ilişkiler tam olarak anlaşılamamıştır. Zonulin sıklıkla araştırma modellerinde kullanılan bağırsak bütünlüğünün belirteçlerinden biridir (Fasano, 2012). Yapılan çalışmalarda sirkadiyen ritim bozulmasının bağırsak mikrobiyotasında pro-inflamatuvar bağırsak bakteri bolluğunda bir artışla, anti-inflamatuvar bağırsak bakteri bolluğunda bir azalmayla ve artmış bağırsak bariyer geçirgenliği ile ilişkili olduğu görülmüştür (Teichman vd., 2020). Yapılan bir çalışmada değiştirilmiş aydınlık karanlık döngüleriyle oluşturulmuş sirkadiyen ritim

bozulmasının bağırsak bariyer geçirgenliği oluşturduğu ve alkolün tetiklediği bağırsak aşırı geçirgenliğini arttırdığı görülmektedir (Summa vd., 2013). Polidarová vd. (2017) çalışmasında 6 saatlik bir aydınlık/karanlık faz kaymasının, anti-inflamatuar yanıtla ilişkili bir gen olan Rsg16 geninin ekspresyonu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bir başka çalışmada, sürekli ışık ortamında barındırılarak sirkadiyen ritimleri bozulmuş deney hayvanlarında sıkı bağlantı (TJ) proteinlerinin değiştirilmiş ekspresyonu ile ilişkili bağırsak bariyeri geçirgenliğinde önemli bir artış yaşandığı görülmüştür (Eum vd., 2022). Aydınlık/karanlık döngülerinin değiştirilmesiyle sirkadiyen ritimleri bozulmuş fareler üzerine yapılan başka bir çalışmada, sirkadiyen ritim bozulması artan kilo alımı ve artmış bağırsak geçirgenliği ile ilişkilendirilmiştir (Khalyfa vd., 2017).

Probiyotikler, uygun miktarlarda ve oranlarda uygulandıklarında sağlıkla ilgili faydalar sağlayan canlı mikroorganizmalardır (Swanson vd., 2020). Birçok çalışma, probiyotiklerin bağırsak geçirgenliğinin bir ölçüsü olan serum zonulin seviyeleri üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Ramezani Ahmadi vd., 2020). Bugüne kadar, sirkadiyen ritim ve beyin-bağırsak-mikrobiyota aksı ilişkisi hakkındaki bilgiler, kemirgenlerde nörolojik semptomlar ile spesifik bakteriler veya bunların metabolitleri arasında bir bağlantı olduğunu gösteren bağlantılı çalışmalara dayanmaktadır (Murakami ve Tognini, 2020). Probiyotikler hem insanlarda hem de hayvanlarda beyin-bağırsak askını modüle edebilmektedir. Bununla birlikte, her ne kadar bakteriler tarafından metabolize edilen gıda bileşenleri olan prebiyotiklerin sirkadiyen ritim genleri üzerine olan etkisi Cheng vd. (2020) tarafından araştırılmış olsa da şu ana kadar probiyotiklerin sirkadiyen ritim gen ekspresyonlarına olan etkisi daha önce araştırılmamıştır. Çalışmamız bu bakımdan özgün bir değer taşımaktadır.

Çalışmamızda aydınlık/karanlık döngüsünün değiştirilmesiyle oluşturulan bozulmuş sirkadiyen ritim modelinde probiyotik takviyesinin serum zonulin düzeyine etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar sirkadiyen ritimleri bozulmuş olan iki grubun da (BSR ve Probiyotik+SBR) serum zonulin seviyelerinin kontrol grubuna göre ve belirlenen serum zonulin ortanca değerine (41,5 ng/mL) göre yüksek zonulin seviyesi göstermişlerdir. Grupların ortalama zonulin değerleri, Kontrol grubunda; $37,56 \pm 14,56$ ng/mL, BSR grubunda; $44,13 \pm 13,00$ ng/mL, Probiyotik+BSR grubunda; $43,01 \pm 7,03$ ng/mL'dir. Referans düzeyine kıyasla BSR grubu ve Probiyotik+BSR grubu ortanca

değere ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu da sirkadiyen ritim bozulmasının serum zonulin değerlerini yükselttiğini göstermektedir. Probiyotik+BSR grubunun BSR grubuna göre zonulin değerleri daha düşüktür. Bu da probiyotik takviyesinin serum zonulin değerine olan olumlu etkisini göstermektedir fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p= 0.503$).

Sirkadiyen ritim ve bağırsak bariyer geçirgenliği ilişkisi birçok çalışmada beyin-bağırsak-mikrobiyota aksı ile ilişkilendirilmiştir (Teichman vd., 2020). Mikrobiyal metabolitler, genellikle vagus sinirini içeren doğrudan nöral sinyalleme yoluyla veya dolaylı olarak nöroendokrin ve nöroimmün yollarla hipotalamus üzerindeki etkilerini gösterebilir (Dalile vd., 2019). Çalışmamızdaki sirkadiyen ritimleri bozulmuş gruplarda (BSR ve Probiyotik+BSR) serum zonulin değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmasında ve Probiyotik+BSR grubunun özellikle Per2 gen ekspresyonu seviyelerinin kontrol grubuna BSR grubuna kıyasla daha yakın olmasında beyin-bağırsak aksı önemli bir faktör olabilir. Son araştırmalar, bağırsak florasının merkezi sinir sisteminin gelişimi ve işlevinde çok önemli bir faktör olduğunu göstermiştir (Rogers vd., 2016). Merkezi sinir sistemi, otonom sinir sistemi ve enterik sinir sisteminden oluşan beyin ile gastrointestinal sistem arasında iki yönlü bir bağlantı vardır. Bağırsak ve merkezi sinir sistemi aktivitelerini bütünleştiren bu çift yönlü bağırsak-beyin ekseninde bağırsak florası büyük önem taşır (Serra vd., 2019). Son araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının merkezi sirkadiyen saat genlerinin ifadelerini etkileyebileceğini öne sürmüştür. Leone vd., (2015) bağırsak florasının yokluğunun, diyetten bağımsız olarak sirkadiyen saat gen ekspresyonunda farklılıklara yol açtığını göstermiştir.

Son yıllarda, sirkadiyen saat ve metabolik gen ağlarını birbirine bağlayan bir dizi genetik ve çevresel çalışma yapılmıştır. Örneğin, farelerde sirkadiyen saat geni olan Clock mutasyonu, obeziteye ve metabolik genlerin sirkadiyen ekspresyonunda değişikliklere neden olabilirken, insanlarda, vardiyalı çalışma artan vücut kitle indeksi ile ilişkilidir (O'Reardon vd., 2004; Turek vd., 2005). Bir çalışma, dışkının jet lag olan insanlardan germ-free farelere aktarılması yoluyla yaygın bir sirkadiyen bozulma biçimi olan jet lag etkisini analiz etmiştir. Jet lag olan bireylerden alınan mikrobiyota ile kolonize edilen farelerde, jet lag olmadan önce alınan örneklerle karşılaştırıldığında, daha fazla ağırlık kazanımı görülmüştür (Thaiss vd., 2014).

Çalışmamızda sirkadiyen ritim bozulmasının BSR ve Probiyotik+BSR gruplarında Kontrol grubuna kıyasla ağırlık artışında etkili olduğu görülmüştür ($p < 0.01$). Probiyotik takviyesinin başlama zamanı olan 18. Hafta itibariyle Probiyotik+BSR grubunun ağırlık artışı başlangıç ve 18. Hafta arasında olan sadece sirkadiyen ritim bozulma modeli zamanı içindeki ağırlık değişimine göre azalmıştır ($p < 0.01$). Mevcut sonuçlarla birlikte ele alındığında bu bulgular, sirkadiyen ve metabolik süreçler arasındaki senkronizasyonun, enerji dengesinin düzenlenmesinde ve vücut ağırlığı kontrolünde önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Çalışmamızda gen ekspresyonu ve serum zonulin seviyelerinin gruplar arasındaki farklarının istatistiksel olarak anlamlı olmamasının sebebi çalışma popülasyon sayısının az olması ve özellikle gen ekspresyonu düzeylerine 4 farklı saat aralığında grup başına ikişer hayvan olacak şekilde planlanması olabilir. Aynı zamanda probiyotik takviyesi süresinin 8 hafta gibi görece kısa bir zaman diliminde olması da bu takviyenin gen ekspresyonları ve serum zonulin üzerindeki etkisini değiştirmiş olabilir.

Her ne kadar memelilerdeki sirkadiyen mekanizma evrimsel olarak iyi korunmuş ve bu nedenle moleküler mekanizmanın temel anlayışı söz konusu olduğunda çok bilgilendirici olsa da gündüz aktif olan ve taban tabana farklı bir uyku-uyanıklık döngüsüne sahip insanlarla gece hayvanlarını karşılaştırmak zordur. Ek olarak, sirkadiyen çalışmalarda kullanılan hayvanlar sıkı 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüleri altında tutulur ve kontrollü bir ortamda deneyler yapılır. İnsanlar, karmaşıklığı daha da artıran benzersiz yaşam tarzlarına sahiptir. İnsanlar üzerinde yapılacak çalışmalarda bu faktörlerin göz önüne alınması önemlidir.

6. SONUÇ

Aydınlık/Karanlık döngüleri değiştirilerek sirkadiyen ritimleri bozulan fare modellerinde probiyotik takviyesinin; merkezi sirkadiyen ritim genlerinden Clock, Bmal1 ve Per2 ekspresyonları üzerine etkilerinin, gruplar arasındaki ve gruplar içindeki ağırlık değişimlerinin ve bağırsak bariyer geçirgenliği parametrelerinden olan serum zonulin düzeyine oluşturduğu etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yaptığımız çalışmanın sonuçları şu şekildedir:

- Kontrol, BSR ve Probiyotik+BSR' de yer alan farelerin başlangıç ağırlıkları ortalamaları sırasıyla $37,5 \pm 2,77$ g; $38,12 \pm 1,55$ g ve $37,00 \pm 3,58$ g'dır. Kontrol'de başlangıç ve 8. Hafta ve başlangıç ve 16. Hafta arasında istatistiksel bir anlamlılık yokken 8. Hafta ve 16. Hafta arasında ağırlıkları açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). BSR'de yer alan farelerin başlangıç, 8. Hafta ve 16. Hafta arasındaki ağırlıkları açısından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Probiyotik+BSR grubunda yer alan farelerin başlangıç ve 8. Hafta arasındaki ağırlık değişimi ve başlangıç ve 16. Hafta arasındaki ağırlık değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu verilere göre; sirkadiyen ritim bozulmasının ağırlık kazanımını artırdığı sonucuna varılmıştır.

- Grupların ortalama serum zonulin değerleri sırasıyla, $37,56 \pm 14,56$ ng/mL; $44,13 \pm 13,00$ ng/mL; $43,01 \pm 7,03$ ng/mL'dir. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,503$). Bu verilere göre; sirkadiyen ritim bozulmasının serum zonulin değerlerini yükselttiği ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

- Probiyotik takviyesinin ve aydınlık/karanlık döngüsünün her iki haftada bir değiştirilmesinin merkezi sirkadiyen genlerinin ekspresyonunu etkileyip etkilemediğini incelemek için Clock, Bmal1 ve Per2 gen ekspresyonları incelenmiştir. Clock ekspresyonu, Kontrol ve Probiyotik+BSR grubunda ZT12 zaman diliminde, BSR grubunda ZT18' de zirveye ulaşmıştır. Bmal1 ekspresyonu, Kontrol grubunda ZT18' de zirveye ulaşmış ve ZT16' de dibe ulaşmıştır. Hem Kontrol hem de Probiyotik+BSR grubu, ZT18'de Per2 gen ekspresyon seviyesi zirveye ulaşan, sirkadiyen ritimleri bozulmuş gruba kıyasla benzer Per2 ekspresyonu ritimleri sergilemiştir. Bu durum probiyotik takviyesinin, Per2 gen ekspresyonu üzerine kontrol grubuyla benzer ekspresyon seviyeleri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda önemi daha da anlaşılan sirkadiyen ritimlerin ve sirkadiyen ritimlerin fizyoloji ile ilişkisinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Sirkadiyen ritim bozulmasının ve bağırsak sağlığının ilişkisi son yıllarda artan çalışmalarla desteklense de literatürde yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla sirkadiyen ritimleri bozulmuş farelerde probiyotik takviyesinin sirkadiyen ritim genlerine, ağırlık artışına ve bağırsak bariyer geçirgenliği parametrelerinden olan serum zonuline etkisini ortaya koymak açısından önemlidir. Elde edilen bu sonuçlar, sirkadiyen ritimleri bozulmuş bireylerde probiyotik takviyesi konusunda yol gösterici nitelikte olmaktadır.



KAYNAKLAR

- Ackermann, W., Coenen, M., Schrödl, W., Shehata, A. A., & Krüger, M. (2015). The influence of glyphosate on the microbiota and production of botulinum neurotoxin during ruminal fermentation. *Current microbiology*, 70(3), 374–382.
- Ahern, P. P., & Maloy, K. J. (2020). Understanding immune-microbiota interactions in the intestine. *Immunology*, 159(1), 4–14.
- Ahluwalia M. K. (2022). Chrononutrition-When We Eat Is of the Essence in Tackling Obesity. *Nutrients*, 14(23), 5080.
- Alam, A., & Neish, A. (2018). Role of gut microbiota in intestinal wound healing and barrier function. *Tissue barriers*, 6(3), 1539595.
- Albrecht U. (2012). Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron*, 74(2), 246–260.
- Alizadeh, A., Akbari, P., Garssen, J., Fink-Gremmels, J., & Braber, S. (2022). Epithelial integrity, junctional complexes, and biomarkers associated with intestinal functions. *Tissue barriers*, 10(3), 1996830.
- Amabebe, E., Robert, F. O., Agbalalah, T., & Orubu, E. S. F. (2020). Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *The British journal of nutrition*, 123(10), 1127–1137.
- Amara, A. A., & Shibl, A. (2015). Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 23(2), 107–114.
- Arble, D. M., Ramsey, K. M., Bass, J., & Turek, F. W. (2010). Circadian disruption and metabolic disease: findings from animal models. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 24(5), 785–800.
- Arendt J. (1998). Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of reproduction*, 3(1), 13–22.
- Arendt J. (2019). Melatonin: Countering Chaotic Time Cues. *Frontiers in endocrinology*, 10, 391.
- Arendt, J., & Skene, D. J. (2005). Melatonin as a chronobiotic. *Sleep medicine reviews*, 9(1), 25–39.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J. M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174–180.
- Asher, G., & Sassone-Corsi, P. (2015). Time for food: the intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock. *Cell*, 161(1), 84–92.
- Barion, A., & Zee, P. C. (2007). A clinical approach to circadian rhythm sleep disorders. *Sleep medicine*, 8(6), 566–577.
- Bass, J., & Lazar, M. A. (2016). Circadian time signatures of fitness and disease. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6315), 994–999.

- Bass, J., & Takahashi, J. S. (2010). Circadian integration of metabolism and energetics. *Science* (New York, N.Y.), 330(6009), 1349–1354.
- Bienenstock, J., Kunze, W., & Forsythe, P. (2015). Microbiota and the gut-brain axis. *Nutrition reviews*, 73 Suppl 1, 28–31.
- Biesalski H. K. (2016). Nutrition meets the microbiome: micronutrients and the microbiota. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1372(1), 53–64.
- Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., Tilg, H., Watson, A., & Wells, J. M. (2014). Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology*, 14, 189.
- Bishehsari, F., & Keshavarzian, A. (2019). Microbes help to track time. *Science* (New York, N.Y.), 365(6460), 1379–1380.
- Bishehsari, F., Voigt, R. M., & Keshavarzian, A. (2020). Circadian rhythms and the gut microbiota: from the metabolic syndrome to cancer. *Nature reviews. Endocrinology*, 16(12), 731–739.
- Bistoletti, M., Bosi, A., Banfi, D., Giaroni, C., & Baj, A. (2020). The microbiota-gut-brain axis: Focus on the fundamental communication pathways. *Progress in molecular biology and translational science*, 176, 43–110.
- Brandtzaeg P. (2011). The gut as communicator between environment and host: immunological consequences. *European journal of pharmacology*, 668 Suppl 1, S16–S32.
- Bray, M. S., Ratcliffe, W. F., Grenett, M. H., Brewer, R. A., Gamble, K. L., & Young, M. E. (2013). Quantitative analysis of light-phase restricted feeding reveals metabolic dyssynchrony in mice. *International journal of obesity* (2005), 37(6), 843–852.
- Buckley, A., & Turner, J. R. (2018). Cell Biology of Tight Junction Barrier Regulation and Mucosal Disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(1), a029314.
- Bumgarner, J. R., Walker, W. H., 2nd, & Nelson, R. J. (2021). Circadian rhythms and pain. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 129, 296–306.
- Bunger, M. K., Wilsbacher, L. D., Moran, S. M., Clendenin, C., Radcliffe, L. A., Hogenesch, J. B., Simon, M. C., Takahashi, J. S., & Bradfield, C. A. (2000). Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 103(7), 1009–1017.
- Burgess H. J. (2010). Partial sleep deprivation reduces phase advances to light in humans. *Journal of biological rhythms*, 25(6), 460–468.
- Burokas, A., Arboleya, S., Moloney, R. D., Peterson, V. L., Murphy, K., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biological psychiatry*, 82(7), 472–487.
- Butler, T. D., & Gibbs, J. E. (2020). Circadian Host-Microbiome Interactions in Immunity. *Frontiers in immunology*, 11, 1783.
- Céni, M. C., Matzaraki, V., Tigchelaar, E. F., & Zhernakova, A. (2014). Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochimica et biophysica acta*, 1842(10), 1981–1992.
- Cheng, W.-Y., Lam, K.-L., Pik-Shan Kong, A., & Chi-Keung Cheung, P. (2020). Prebiotic supplementation (beta-glucan and inulin) attenuates circadian misalignment induced by

- shifted light-dark cycle in mice by modulating circadian gene expression. *Food Research International*, 137, 109437.
- Cheng, W. Y., Ho, Y. S., & Chang, R. C. (2022). Linking circadian rhythms to microbiome-gut-brain axis in aging-associated neurodegenerative diseases. *Ageing research reviews*, 78, 101620.
- Clapp, M., Aurora, N., Herrera, L., Bhatia, M., Wilen, E., & Wakefield, S. (2017). Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clinics and practice*, 7(4), 987.
- Collins, S. M., Surette, M., & Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature reviews. Microbiology*, 10(11), 735–742.
- Cusotto, S., Sandhu, K. V., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2018). The Neuroendocrinology of the Microbiota-Gut-Brain Axis: A Behavioural Perspective. *Frontiers in neuroendocrinology*, 51, 80–101.
- Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 16(8), 461–478.
- Deaver, J. A., Eum, S. Y., & Toborek, M. (2018). Circadian Disruption Changes Gut Microbiome Taxa and Functional Gene Composition. *Frontiers in microbiology*, 9, 737.
- Dinan, T. G., Stanton, C., & Cryan, J. F. (2013). Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biological psychiatry*, 74(10), 720–726.
- Drago, S., El Asmar, R., Di Pierro, M., Grazia Clemente, M., Tripathi, A., Sapone, A., Thakar, M., Iacono, G., Carroccio, A., D'Agate, C., Not, T., Zampini, L., Catassi, C., & Fasano, A. (2006). Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 41(4), 408–419.
- Duboc, H., Coffin, B., & Siproudhis, L. (2020). Disruption of Circadian Rhythms and Gut Motility: An Overview of Underlying Mechanisms and Associated Pathologies. *Journal of clinical gastroenterology*, 54(5), 405–414.
- Dunlap J. C. (1999). Molecular bases for circadian clocks. *Cell*, 96(2), 271–290.
- El Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Coppa, G. V., Catassi, C., & Fasano, A. (2002). Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123(5), 1607–1615.
- Erren, T. C., & Reiter, R. J. (2009). Light Hygiene: Time to make preventive use of insights--old and new--into the nexus of the drug light, melatonin, clocks, chronodisruption and public health. *Medical hypotheses*, 73(4), 537–541.
- Eum, S. Y., Schurhoff, N., Teglas, T., Wolff, G., & Toborek, M. (2022). Circadian disruption alters gut barrier integrity via a β -catenin-MMP-related pathway. *Molecular and cellular biochemistry*, 10.1007/s11010-022-04536-8. Advance online publication.
- Fasano A. (2012). Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 10(10), 1096–1100.

- Fasano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A., & Goldblum, S. E. (2000). Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet (London, England)*, 355(9214), 1518–1519.
- Faulkner, S. M., Bee, P. E., Meyer, N., Dijk, D. J., & Drake, R. J. (2019). Light therapies to improve sleep in intrinsic circadian rhythm sleep disorders and neuro-psychiatric illness: A systematic review and meta-analysis. *Sleep medicine reviews*, 46, 108–123.
- Faulkner, S. M., Dijk, D. J., Drake, R. J., & Bee, P. E. (2020). Adherence and acceptability of light therapies to improve sleep in intrinsic circadian rhythm sleep disorders and neuropsychiatric illness: a systematic review. *Sleep health*, 6(5), 690–701.
- Fetissov S. O. (2017). Role of the gut microbiota in host appetite control: bacterial growth to animal feeding behaviour. *Nature reviews. Endocrinology*, 13(1), 11–25.
- Fishbein, A. B., Knutson, K. L., & Zee, P. C. (2021). Circadian disruption and human health. *The Journal of clinical investigation*, 131(19), e148286.
- Forsyth, C. B., Voigt, R. M., Burgess, H. J., Swanson, G. R., & Keshavarzian, A. (2015). Circadian rhythms, alcohol and gut interactions. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 49(4), 389–398.
- Forsythe, P., Kunze, W. A., & Bienenstock, J. (2012). On communication between gut microbes and the brain. *Current opinion in gastroenterology*, 28(6), 557–562.
- Foster R. G. (2021). Melatonin. *Current biology: CB*, 31(22), R1456–R1458.
- Frazier, K., & Chang, E. B. (2020). Intersection of the Gut Microbiome and Circadian Rhythms in Metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 31(1), 25–36.
- Froy, O., & Garaulet, M. (2018). The Circadian Clock in White and Brown Adipose Tissue: Mechanistic, Endocrine, and Clinical Aspects. *Endocrine reviews*, 39(3), 261–273.
- Gabryelska, A., Turkiewicz, S., Karuga, F. F., Sochal, M., Strzelecki, D., & Białasiewicz, P. (2022). Disruption of Circadian Rhythm Genes in Obstructive Sleep Apnea Patients- Possible Mechanisms Involved and Clinical Implication. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 709.
- Gallego, M., & Virshup, D. M. (2007). Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(2), 139–148.
- Greco, C. M., & Sassone-Corsi, P. (2019). Circadian blueprint of metabolic pathways in the brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 20(2), 71–82.
- Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Frontiers in physiology*, 2, 94.
- Gu, Z., Wang, B., Zhang, Y. B., Ding, H., Zhang, Y., Yu, J., Gu, M., Chan, P., & Cai, Y. (2015). Association of ARNTL and PER1 genes with Parkinson's disease: A case-control study of Han Chinese. *Scientific Reports*, 5, 15891.
- Guan, D., & Lazar, M. A. (2021). Interconnections between circadian clocks and metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 131(15), e148278.
- Guan, D., Xiong, Y., Trinh, T. M., Xiao, Y., Hu, W., Jiang, C., Dierickx, P., Jang, C., Rabinowitz, J. D., & Lazar, M. A. (2020). The hepatocyte clock and feeding control chronophysiology of multiple liver cell types. *Science (New York, N.Y.)*, 369(6509), 1388–1394.

- Gubert, C., Kong, G., Renoir, T., & Hannan, A. J. (2020). Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiology of disease*, 134, 104621.
- Guillaumond, F., Dardente, H., Giguère, V., & Cermakian, N. (2005). Differential control of *Bmal1* circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *Journal of biological rhythms*, 20(5), 391–403.
- Gutierrez Lopez, D. E., Lashinger, L. M., Weinstock, G. M., & Bray, M. S. (2021). Circadian rhythms and the gut microbiome synchronize the host's metabolic response to diet. *Cell metabolism*, 33(5), 873–887.
- Han, H., Yi, B., Zhong, R., Wang, M., Zhang, S., Ma, J., Yin, Y., Yin, J., Chen, L., & Zhang, H. (2021). From gut microbiota to host appetite: gut microbiota-derived metabolites as key regulators. *Microbiome*, 9(1), 162.
- Hara, R., Wan, K., Wakamatsu, H., Aida, R., Moriya, T., Akiyama, M., & Shibata, S. (2001). Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*, 6(3), 269–278.
- Hastings, M. H., Reddy, A. B., & Maywood, E. S. (2003). A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature reviews. Neuroscience*, 4(8), 649–661.
- Hatori, M., Vollmers, C., Zarrinpar, A., DiTacchio, L., Bushong, E. A., Gill, S., Leblanc, M., Chaix, A., Joens, M., Fitzpatrick, J. A., Ellisman, M. H., & Panda, S. (2012). Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell metabolism*, 15(6), 848–860.
- He, B., Nohara, K., Park, N., Park, Y. S., Guillory, B., Zhao, Z., Garcia, J. M., Koike, N., Lee, C. C., Takahashi, J. S., Yoo, S. H., & Chen, Z. (2016). The Small Molecule Nobiletin Targets the Molecular Oscillator to Enhance Circadian Rhythms and Protect against Metabolic Syndrome. *Cell metabolism*, 23(4), 610–621.
- Hébert, M., Martin, S. K., Lee, C., & Eastman, C. I. (2002). The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *Journal of pineal research*, 33(4), 198–203.
- Hergenhan, S., Holtkamp, S., & Scheiermann, C. (2020). Molecular Interactions Between Components of the Circadian Clock and the Immune System. *Journal of molecular biology*, 432(12), 3700–3713.
- Hiel, S., Bindels, L. B., Pachikian, B. D., Kalala, G., Broers, V., Zamariola, G., Chang, B. P. I., Kambashi, B., Rodriguez, J., Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Thissen, J. P., Luminet, O., Bindelle, J., & Delzenne, N. M. (2019). Effects of a diet based on inulin-rich vegetables on gut health and nutritional behavior in healthy humans. *The American journal of clinical nutrition*, 109(6), 1683–1695.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C. and Sanders, M.E. (2014) Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506-514.
- Hogenesch, J. B., & Ueda, H. R. (2011). Understanding systems-level properties: timely stories from the study of clocks. *Nature reviews. Genetics*, 12(6), 407–416.

- Hsieh, M. C., Yang, S. C., Tseng, H. L., Hwang, L. L., Chen, C. T., & Shieh, K. R. (2010). Abnormal expressions of circadian-clock and circadian clock-controlled genes in the livers and kidneys of long-term, high-fat-diet-treated mice. *International journal of obesity* (2005), 34(2), 227–239.
- Hu, L., Li, G., Shu, Y., Hou, X., Yang, L., & Jin, Y. (2022). Circadian dysregulation induces alterations of visceral sensitivity and the gut microbiota in Light/Dark phase shift mice. *Frontiers in microbiology*, 13, 935919.
- Hutchison, A. T., Wittert, G. A., & Heilbronn, L. K. (2017). Matching Meals to Body Clocks-Impact on Weight and Glucose Metabolism. *Nutrients*, 9(3), 222.
- Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Nageshwar Reddy, D. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World journal of gastroenterology*, 21(29), 8787–8803.
- Johnston, J. D., Ordovás, J. M., Scheer, F. A., & Turek, F. W. (2016). Circadian Rhythms, Metabolism, and Chrononutrition in Rodents and Humans. *Advances in nutrition* (Bethesda, Md.), 7(2), 399–406.
- 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.
- Khalyfa, A., Poroyko, V. A., Qiao, Z., Gileles-Hillel, A., Khalyfa, A. A., Akbarpour, M., Almendros, I., Farré, R., & Gozal, D. (2017). Exosomes and Metabolic Function in Mice Exposed to Alternating Dark-Light Cycles Mimicking Night Shift Work Schedules. *Frontiers in physiology*, 8, 882.
- Ko, C. H., & Takahashi, J. S. (2006). Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human molecular genetics*, 15 Spec No 2, R271–R277.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, 165(6), 1332–1345.
- Kohsaka, A., Laposky, A. D., Ramsey, K. M., Estrada, C., Joshu, C., Kobayashi, Y., Turek, F. W., & Bass, J. (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell metabolism*, 6(5), 414–421.
- Korenčič, A., Košir, R., Bordyugov, G., Lehmann, R., Rozman, D., & Herzel, H. (2014). Timing of circadian genes in mammalian tissues. *Scientific reports*, 4, 5782.
- Koronowski, K. B., & Sassone-Corsi, P. (2021). Communicating clocks shape circadian homeostasis. *Science* (New York, N.Y.), 371(6530), eabd0951.
- Kuhlman, S. J., Craig, L. M., & Duffy, J. F. (2018). Introduction to Chronobiology. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(9), a033613.
- Kumar, M., Kisson-Singh, V., Coria, A. L., Moreau, F., & Chadee, K. (2017). Probiotic mixture VSL#3 reduces colonic inflammation and improves intestinal barrier function in Muc2 mucin-deficient mice. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 312(1), G34–G45.
- Lananna, B. V., & Musiek, E. S. (2020). The wrinkling of time: Aging, inflammation, oxidative stress, and the circadian clock in neurodegeneration. *Neurobiology of disease*, 139, 104832.

- Laposky, A., Easton, A., Dugovic, C., Walisser, J., Bradfield, C., & Turek, F. (2005). Deletion of the mammalian circadian clock gene BMAL1/Mop3 alters baseline sleep architecture and the response to sleep deprivation. *Sleep*, 28(4), 395–409.
- Lau, K., Srivatsav, V., Rizwan, A., Nashed, A., Liu, R., Shen, R., & Akhtar, M. (2017). Bridging the Gap between Gut Microbial Dysbiosis and Cardiovascular Diseases. *Nutrients*, 9(8), 859.
- LeGates, T. A., Fernandez, D. C., & Hattar, S. (2014). Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nature reviews. Neuroscience*, 15(7), 443–454.
- Leng, Y., Blackwell, T., Cawthon, P. M., Ancoli-Israel, S., Stone, K. L., & Yaffe, K. (2020). Association of Circadian Abnormalities in Older Adults With an Increased Risk of Developing Parkinson Disease. *JAMA neurology*, 77(10), 1270–1278.
- Leone, V., Gibbons, S. M., Martinez, K., Hutchison, A. L., Huang, E. Y., Cham, C. M., Pierre, J. F., Heneghan, A. F., Nadimpalli, A., Hubert, N., Zale, E., Wang, Y., Huang, Y., Theriault, B., Dinner, A. R., Musch, M. W., Kudsk, K. A., Prendergast, B. J., Gilbert, J. A., & Chang, E. B. (2015). Effects of diurnal variation of gut microbes and high-fat feeding on host circadian clock function and metabolism. *Cell host & microbe*, 17(5), 681–689.
- Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaiss, C. A., & Elinav, E. (2017). Dysbiosis and the immune system. *Nature reviews. Immunology*, 17(4), 219–232.
- Li, H., Ni, J., & Qing, H. (2021). Gut Microbiota: Critical Controller and Intervention Target in Brain Aging and Cognitive Impairment. *Frontiers in aging neuroscience*, 13, 671142.
- Li, Y., Hao, Y., Fan, F., & Zhang, B. (2018). The Role of Microbiome in Insomnia, Circadian Disturbance and Depression. *Frontiers in psychiatry*, 9, 669.
- Liang, S., Wu, X., & Jin, F. (2018). Gut-Brain Psychology: Rethinking Psychology From the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in integrative neuroscience*, 12, 33.
- Liang, X., & FitzGerald, G. A. (2017). Timing the Microbes: The Circadian Rhythm of the Gut Microbiome. *Journal of biological rhythms*, 32(6), 505–515.
- Liang, X., Bushman, F. D., & FitzGerald, G. A. (2015). Rhythmicity of the intestinal microbiota is regulated by gender and the host circadian clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(33), 10479–10484.
- Liu, X., Cao, S., & Zhang, X. (2015). Modulation of Gut Microbiota-Brain Axis by Probiotics, Prebiotics, and Diet. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(36), 7885–7895.
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome medicine*, 8(1), 51.
- Lobionda, S., Sittipo, P., Kwon, H. Y., & Lee, Y. K. (2019). The Role of Gut Microbiota in Intestinal Inflammation with Respect to Diet and Extrinsic Stressors. *Microorganisms*, 7(8), 271.
- Luik, A. I., Zuurbier, L. A., Direk, N., Hofman, A., Van Someren, E. J. W., & Tiemeier, H. (2015). 24-hour activity rhythm and sleep disturbances in depression and anxiety: A population-based study of middle-aged and older persons. *Depression and Anxiety*, 32(9), 684–692.
- Lynch, S.V., Pedersen, O., 2016. The human intestinal microbiome in health and disease. *N. Engl. J. Med.* 375, 2369–2379.

- Man, K., Loudon, A., & Chawla, A. (2016). Immunity around the clock. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6315), 999–1003.
- Manoogian, E. N. C., & Panda, S. (2017). Circadian rhythms, time-restricted feeding, and healthy aging. *Ageing research reviews*, 39, 59–67.
- Marcinkevicius, E. V., & Shirasu-Hiza, M. M. (2015). Message in a biota: gut microbes signal to the circadian clock. *Cell host & microbe*, 17(5), 541–543.
- Marotta, A., Sarno, E., Del Casale, A., Pane, M., Mogna, L., Amoroso, A., Felis, G. E., & Fiorio, M. (2019). Effects of Probiotics on Cognitive Reactivity, Mood, and Sleep Quality. *Frontiers in psychiatry*, 10, 164.
- Matenchuk, B. A., Mandhane, P. J., & Kozyrskyj, A. L. (2020). Sleep, circadian rhythm, and gut microbiota. *Sleep medicine reviews*, 53, 101340.
- Mayer E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(8), 453–466.
- McClean, C., & Davison, G. W. (2022). Circadian Clocks, Redox Homeostasis, and Exercise: Time to Connect the Dots?. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(2), 256.
- Mohawk, J. A., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2012). Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annual review of neuroscience*, 35, 445–462.
- Moore R. Y. (2007). Suprachiasmatic nucleus in sleep-wake regulation. *Sleep medicine*, 8 Suppl 3, 27–33.
- 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.
- Morris, C. J., Purvis, T. E., Hu, K., & Scheer, F. A. (2016). Circadian misalignment increases cardiovascular disease risk factors in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(10), E1402–E1411.
- Mortaş, H., Bilici, S., & Karakan, T. (2020). The circadian disruption of night work alters gut microbiota consistent with elevated risk for future metabolic and gastrointestinal pathology. *Chronobiology international*, 37(7), 1067–1081.
- Mukherji, A., Kobiita, A., Ye, T., & Chambon, P. (2013). Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs. *Cell*, 153(4), 812–827.
- Murakami, M., & Tognini, P. (2020). The Circadian Clock as an Essential Molecular Link Between Host Physiology and Microorganisms. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 469.
- Nabokina, S. M., Inoue, K., Subramanian, V. S., Valle, J. E., Yuasa, H., & Said, H. M. (2014). Molecular identification and functional characterization of the human colonic thiamine pyrophosphate transporter. *The Journal of biological chemistry*, 289(7), 4405–4416.
- Nakagawa, M., Yamamoto, H., Kawaji, M., Miura, N., Wakame, K. and Endo, T., (2018). Effects of lactic acid bacteria-containing foods on the quality of sleep: a placebo-controlled, double-blinded, randomized crossover study. *Functional Foods in Health and Disease* 8: 579-596.
- Nguyen, C., Murray, G., Anderson, S., Filipowicz, A., & Ingram, K. K. (2019). In vivo molecular chronotyping, circadian misalignment, and high rates of depression in young adults. *Journal of affective disorders*, 250, 425–431.

- Nishida, K., Sawada, D., Kawai, T., Kuwano, Y., Fujiwara, S., & Rokutan, K. (2017). Para-psychobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. *Journal of applied microbiology*, 123(6), 1561–1570.
- Noble, E. E., Hsu, T. M., & Kanoski, S. E. (2017). Gut to Brain Dysbiosis: Mechanisms Linking Western Diet Consumption, the Microbiome, and Cognitive Impairment. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 11, 9.
- Ojeda, J., Ávila, A., & Vidal, P. M. (2021). Gut Microbiota Interaction with the Central Nervous System throughout Life. *Journal of clinical medicine*, 10(6), 1299.
- Oppehuizen, A. L., van Kerkhof, L. W., Proper, K. I., Rodenburg, W., & Kalsbeek, A. (2015). Rodent models to study the metabolic effects of shiftwork in humans. *Frontiers in pharmacology*, 6, 50.
- Palagini, L., Cipollone, G., Moretto, U., Masci, I., Tripodi, B., Caruso, D., & Perugi, G. (2019). Chronobiological dis-rhythmicity is related to emotion dysregulation and suicidality in depressive bipolar II disorder with mixed features. *Psychiatry research*, 271, 272–278.
- Pan, A., Schernhammer, E. S., Sun, Q., & Hu, F. B. (2011). Rotating night shift work and risk of type 2 diabetes: two prospective cohort studies in women. *PLoS medicine*, 8(12), e1001141.
- Pan, X., Munshi, M. K., Iqbal, J., Queiroz, J., Sirwi, A. A., Shah, S., Younus, A., & Hussain, M. M. (2013). Circadian regulation of intestinal lipid absorption by apolipoprotein AIV involves forkhead transcription factors A2 and O1 and microsomal triglyceride transfer protein. *The Journal of biological chemistry*, 288(28), 20464–20476.
- Pandi-Perumal, S. R., Trakht, I., Srinivasan, V., Spence, D. W., Maestroni, G. J., Zisapel, N., & Cardinali, D. P. (2008). Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Progress in neurobiology*, 85(3), 335–353.
- Parkar, S. G., Kalsbeek, A., & Cheeseman, J. F. (2019). Potential Role for the Gut Microbiota in Modulating Host Circadian Rhythms and Metabolic Health. *Microorganisms*, 7(2), 41.
- Partch, C. L., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2014). Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends in cell biology*, 24(2), 90–99.
- Paschos, G. K., Ibrahim, S., Song, W. L., Kunieda, T., Grant, G., Reyes, T. M., Bradfield, C. A., Vaughan, C. H., Eiden, M., Masoodi, M., Griffin, J. L., Wang, F., Lawson, J. A., & Fitzgerald, G. A. (2012). Obesity in mice with adipocyte-specific deletion of clock component *Arntl*. *Nature medicine*, 18(12), 1768–1777.
- Patke, A., Young, M. W., & Axelrod, S. (2020). Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(2), 67–84.
- Peng, F., Li, X., Xiao, F., Zhao, R., & Sun, Z. (2022). Circadian clock, diurnal glucose metabolic rhythm, and dawn phenomenon. *Trends in neurosciences*, 45(6), 471–482.
- Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R., & Núñez, G. (2017). Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunological reviews*, 279(1), 70–89.
- Polidarová, L., Houdek, P., & Sumová, A. (2017). Chronic disruptions of circadian sleep regulation induce specific proinflammatory responses in the rat colon. *Chronobiology international*, 34(9), 1273–1287.

- Poroyko, V. A., Carreras, A., Khalyfa, A., Khalyfa, A. A., Leone, V., Peris, E., Almendros, I., Gileles-Hillel, A., Qiao, Z., Hubert, N., Farré, R., Chang, E. B., & Gozal, D. (2016). Chronic Sleep Disruption Alters Gut Microbiota, Induces Systemic and Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance in Mice. *Scientific reports*, 6, 35405.
- Qian, J., & Scheer, F. (2016). Circadian System and Glucose Metabolism: Implications for Physiology and Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 27(5), 282–293.
- Quintero, J. E., Kuhlman, S. J., & McMahon, D. G. (2003). The biological clock nucleus: a multiphasic oscillator network regulated by light. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(22), 8070–8076.
- Osadchiy, V., Martin, C. R., & Mayer, E. A. (2019). The Gut-Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 17(2), 322–332.
- Ramezani Ahmadi, A., Sadeghian, M., Alipour, M., Ahmadi Taheri, S., Rahmani, S., & Abbasnezhad, A. (2020). The Effects of Probiotic/Synbiotic on Serum Level of Zonulin as a Biomarker of Intestinal Permeability: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Iranian journal of public health*, 49(7), 1222–1231.
- Rath, S., Rud, T., Karch, A., Pieper, D. H., & Vital, M. (2018). Pathogenic functions of host microbiota. *Microbiome*, 6(1), 174.
- Redondo-Useros, N., Nova, E., González-Zancada, N., Díaz, L. E., Gómez-Martínez, S., & Marcos, A. (2020). Microbiota and Lifestyle: A Special Focus on Diet. *Nutrients*, 12(6), 1776.
- Reid, K. J., & Abbott, S. M. (2015). Jet Lag and Shift Work Disorder. *Sleep medicine clinics*, 10(4), 523–535.
- Reinke, H., & Asher, G. (2019). Crosstalk between metabolism and circadian clocks. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 20(4), 227–241.
- Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935–941.
- Ridaura, V., & Belkaid, Y. (2015). Gut microbiota: the link to your second brain. *Cell*, 161(2), 193–194.
- Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Pulcini, G., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. *Nutrients*, 11(10), 2393.
- Rodríguez-Santana, C., Florido, J., Martínez-Ruiz, L., López-Rodríguez, A., Acuña-Castroviejo, D., & Escames, G. (2023). Role of Melatonin in Cancer: Effect on Clock Genes. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 1919.
- Roenneberg, T., Allebrandt, K. V., Mew, M., & Vetter, C. (2012). Social jetlag and obesity. *Current biology : CB*, 22(10), 939–943.
- Roenneberg, T., Daan, S., & Mew, M. (2003). The art of entrainment. *Journal of biological rhythms*, 18(3), 183–194.

- Rogers, G. B., Keating, D. J., Young, R. L., Wong, M. L., Licinio, J., & Wesselingh, S. (2016). From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Molecular psychiatry*, 21(6), 738–748.
- Rooks, M. G., & Garrett, W. S. (2016). Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature reviews. Immunology*, 16(6), 341–352.
- Rosenwasser, A. M., & Turek, F. W. (2015). Neurobiology of Circadian Rhythm Regulation. *Sleep medicine clinics*, 10(4), 403–412.
- Ruan, W., Yuan, X., & Eltzschig, H. K. (2021). Circadian rhythm as a therapeutic target. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(4), 287–307.
- Sato, T., & Sassone-Corsi, P. (2022). Nutrition, metabolism, and epigenetics: pathways of circadian reprogramming. *EMBO reports*, 23(5), e52412.
- Savignac, H. M., Kiely, B., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 26(11), 1615–1627.
- Scaldaferri, F., Pizzoferrato, M., Gerardi, V., Lopetuso, L., & Gasbarrini, A. (2012). The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *Journal of clinical gastroenterology*, 46 Suppl, S12–S17.
- Scheiermann, C., Gibbs, J., Ince, L., & Loudon, A. (2018). Clocking in to immunity. *Nature reviews. Immunology*, 18(7), 423–437.
- Scheiermann, C., Kunisaki, Y., & Frenette, P. S. (2013). Circadian control of the immune system. *Nature reviews. Immunology*, 13(3), 190–198.
- Schmalle, V., & Lorentz, A. (2020). Role of the microbiota in circadian rhythms of the host. *Chronobiology international*, 37(3), 301–310.
- Schroeder, B. O., & Bäckhed, F. (2016). Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. *Nature medicine*, 22(10), 1079–1089.
- Schurhoff, N., & Toborek, M. (2023). Circadian rhythms in the blood-brain barrier: impact on neurological disorders and stress responses. *Molecular brain*, 16(1), 5.
- Sciarra, F., Franceschini, E., Campolo, F., Gianfrilli, D., Pallotti, F., Paoli, D., Isidori, A. M., & Venneri, M. A. (2020). Disruption of Circadian Rhythms: A Crucial Factor in the Etiology of Infertility. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 3943.
- Scoditti, E., & Garbarino, S. (2022). Nutrition, Sleep, Circadian Rhythms, and Health Implications: "Come Together". *Nutrients*, 14(23), 5105.
- Serek, P., & Oleksy-Wawrzyniak, M. (2021). The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11359.
- Serino, M., Blasco-Baque, V., Nicolas, S., & Burcelin, R. (2014). Far from the eyes, close to the heart: dysbiosis of gut microbiota and cardiovascular consequences. *Current cardiology reports*, 16(11), 540.
- Serra, D., Almeida, L. M., & Dinis, T. C. P. (2019). The Impact of Chronic Intestinal Inflammation on Brain Disorders: the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Molecular neurobiology*, 56(10), 6941–6951.

- Segers, A., & Depoortere, I. (2021). Circadian clocks in the digestive system. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 18(4), 239–251.
- Shehata, A. A., Yalçın, S., Latorre, J. D., Basiouni, S., Attia, Y. A., Abd El-Wahab, A., Visscher, C., El-Seedi, H. R., Huber, C., Hafez, H. M., Eisenreich, W., & Tellez-Isaias, G. (2022). Probiotics, Prebiotics, and Phytogetic Substances for Optimizing Gut Health in Poultry. *Microorganisms*, 10(2), 395.
- Shivshankar, P., Fekry, B., Eckel-Mahan, K., & Wetsel, R. A. (2020). Circadian Clock and Complement Immune System-Complementary Control of Physiology and Pathology?. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 418.
- Sládek, M., Rybová, M., Jindráková, Z., Zemanová, Z., Polidarová, L., Mrnka, L., O'Neill, J., Pácha, J., & Sumová, A. (2007). Insight into the circadian clock within rat colonic epithelial cells. *Gastroenterology*, 133(4), 1240–1249.
- Smolensky, M. H., Hermida, R. C., Reinberg, A., Sackett-Lundeen, L., & Portaluppi, F. (2016). Circadian disruption: New clinical perspective of disease pathology and basis for chronotherapeutic intervention. *Chronobiology international*, 33(8), 1101–1119.
- Sollars, P. J., & Pickard, G. E. (2015). The Neurobiology of Circadian Rhythms. *The Psychiatric clinics of North America*, 38(4), 645–665.
- Stokkan, K. A., Yamazaki, S., Tei, H., Sakaki, Y., & Menaker, M. (2001). Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science (New York, N.Y.)*, 291(5503), 490–493.
- Sturgeon, C., & Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue barriers*, 4(4), e1251384.
- Sudo N. (2019). Biogenic Amines: Signals Between Commensal Microbiota and Gut Physiology. *Frontiers in endocrinology*, 10, 504.
- Summa, K. C., Voigt, R. M., Forsyth, C. B., Shaikh, M., Cavanaugh, K., Tang, Y., Vitaterna, M. H., Song, S., Turek, F. W., & Keshavarzian, A. (2013). Disruption of the Circadian Clock in Mice Increases Intestinal Permeability and Promotes Alcohol-Induced Hepatic Pathology and Inflammation. *PloS one*, 8(6), e67102.
- Suzuki T. (2020). Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, 91(1), e13357.
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(11), 687–701.
- Tahara, Y., Yamazaki, M., Sukigara, H., Motohashi, H., Sasaki, H., Miyakawa, H., Haraguchi, A., Ikeda, Y., Fukuda, S., & Shibata, S. (2018). Gut Microbiota-Derived Short Chain Fatty Acids Induce Circadian Clock Entrainment in Mouse Peripheral Tissue. *Scientific reports*, 8(1), 1395.
- Takada, M., Nishida, K., Gondo, Y., Kikuchi-Hayakawa, H., Ishikawa, H., Suda, K., Kawai, M., Hoshi, R., Kuwano, Y., Miyazaki, K., & Rokutan, K. (2017). Beneficial effects of *Lactobacillus casei* strain Shirota on academic stress-induced sleep disturbance in healthy adults: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Beneficial microbes*, 8(2), 153–162.

- Takahashi J. S. (2017). Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nature reviews. Genetics*, 18(3), 164–179.
- Takeda, N., & Maemura, K. (2011). Circadian clock and cardiovascular disease. *Journal of Cardiology*, 57(3), 249–256.
- Takiishi, T., Fenero, C. I. M., & Câmara, N. O. S. (2017). Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue barriers*, 5(4), e1373208.
- Tan, D. X., Xu, B., Zhou, X., & Reiter, R. J. (2018). Pineal Calcification, Melatonin Production, Aging, Associated Health Consequences and Rejuvenation of the Pineal Gland. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(2), 301.
- Tegegne, B. A., & Kebede, B. (2022). Probiotics, their prophylactic and therapeutic applications in human health development: A review of the literature. *Heliyon*, 8(6), e09725.
- Teichman, E. M., O'Riordan, K. J., Gahan, C. G. M., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2020). When Rhythms Meet the Blues: Circadian Interactions with the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Cell metabolism*, 31(3), 448–471.
- Thaiss, C. A., Levy, M., Korem, T., Dohnalová, L., Shapiro, H., Jaitin, D. A., David, E., Winter, D. R., Gury-BenAri, M., Tatirovsky, E., Tuganbaev, T., Federici, S., Zmora, N., Zeevi, D., Dori-Bachash, M., Pevsner-Fischer, M., Kartvelishvily, E., Brandis, A., Harmelin, A., Shibolet, O., ... Elinav, E. (2016). Microbiota Diurnal Rhythmicity Programs Host Transcriptome Oscillations. *Cell*, 167(6), 1495–1510.e12.
- Thaiss, C. A., Zeevi, D., Levy, M., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Tengeler, A. C., Abramson, L., Katz, M. N., Korem, T., Zmora, N., Kuperman, Y., Biton, I., Gilad, S., Harmelin, A., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., & Elinav, E. (2014). Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell*, 159(3), 514–529.
- Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., & Chaiyasut, C. (2022). Role of Probiotics and Diet in the Management of Neurological Diseases and Mood States: A Review. *Microorganisms*, 10(11), 2268.
- Tian, Y., Yang, W., Chen, G., Men, C., Gu, Y., Song, X., Zhang, R., Wang, L., & Zhang, X. (2022). An important link between the gut microbiota and the circadian rhythm: imply for treatments of circadian rhythm sleep disorder. *Food science and biotechnology*, 31(2), 155–164.
- Tognini, P., Thaiss, C. A., Elinav, E., & Sassone-Corsi, P. (2017). Circadian Coordination of Antimicrobial Responses. *Cell host & microbe*, 22(2), 185–192.
- Tran, L., Jochum, S. B., Shaikh, M., Wilber, S., Zhang, L., Hayden, D. M., Forsyth, C. B., Voigt, R. M., Bishehsari, F., Keshavarzian, A., & Swanson, G. R. (2021). Circadian misalignment by environmental light/dark shifting causes circadian disruption in colon. *PloS one*, 16(6), e0251604.
- Turek, F. W., Joshu, C., Kohsaka, A., Lin, E., Ivanova, G., McDearmon, E., Laposky, A., Losee-Olson, S., Easton, A., Jensen, D. R., Eckel, R. H., Takahashi, J. S., & Bass, J. (2005). Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5724), 1043–1045.
- Van Hul, M., & Cani, P. D. (2019). Targeting Carbohydrates and Polyphenols for a Healthy Microbiome and Healthy Weight. *Current nutrition reports*, 8(4), 307–316.

- van Maanen, A., Meijer, A. M., van der Heijden, K. B., & Oort, F. J. (2016). The effects of light therapy on sleep problems: A systematic review and meta-analysis. *Sleep medicine reviews*, 29, 52–62.
- Vancamelbeke, M., & Vermeire, S. (2017). The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 11(9), 821–834.
- Varela-Trinidad, G. U., Domínguez-Díaz, C., Solórzano-Castanedo, K., Íñiguez-Gutiérrez, L., Hernández-Flores, T. J., & Fafutis-Morris, M. (2022). Probiotics: Protecting Our Health from the Gut. *Microorganisms*, 10(7), 1428.
- Vetter C. (2020). Circadian disruption: What do we actually mean?. *The European journal of neuroscience*, 51(1), 531–550.
- Videnovic, A., Lazar, A. S., Barker, R. A., & Overeem, S. (2014). The clocks that time us'--circadian rhythms in neurodegenerative disorders. *Nature reviews. Neurology*, 10(12), 683–693.
- Vitaterna, M. H., Takahashi, J. S., & Turek, F. W. (2001). Overview of circadian rhythms. *Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 25(2), 85–93.
- Voigt, R. M., Forsyth, C. B., & Keshavarzian, A. (2019). Circadian rhythms: a regulator of gastrointestinal health and dysfunction. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 13(5), 411–424.
- Voigt, R. M., Forsyth, C. B., Green, S. J., Engen, P. A., & Keshavarzian, A. (2016). Circadian Rhythm and the Gut Microbiome. *International review of neurobiology*, 131, 193–205.
- Voigt, R. M., Summa, K. C., Forsyth, C. B., Green, S. J., Engen, P., Naqib, A., Vitaterna, M. H., Turek, F. W., & Keshavarzian, A. (2016). The Circadian Clock Mutation Promotes Intestinal Dysbiosis. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 40(2), 335–347.
- von Gall C. (2022). The Effects of Light and the Circadian System on Rhythmic Brain Function. *International journal of molecular sciences*, 23(5), 2778.
- Vosko, A. M., Colwell, C. S., & Avidan, A. Y. (2010). Jet lag syndrome: circadian organization, pathophysiology, and management strategies. *Nature and science of sleep*, 2, 187–198.
- Wagner-Skacel, J., Dalkner, N., Moerkl, S., Kreuzer, K., Farzi, A., Lackner, S., Painold, A., Reininghaus, E. Z., Butler, M. I., & Bengesser, S. (2020). Sleep and Microbiome in Psychiatric Diseases. *Nutrients*, 12(8), 2198.
- Wang, H. X., & Wang, Y. P. (2016). Gut Microbiota-brain Axis. *Chinese medical journal*, 129(19), 2373–2380.
- Watson, H., Mitra, S., Croden, F. C., Taylor, M., Wood, H. M., Perry, S. L., Spencer, J. A., Quirke, P., Toogood, G. J., Lawton, C. L., Dye, L., Loadman, P. M., & Hull, M. A. (2018). A randomised trial of the effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplements on the human intestinal microbiota. *Gut*, 67(11), 1974–1983.
- Westfall, S., Lomis, N., Kahouli, I., Dia, S. Y., Singh, S. P., & Prakash, S. (2017). Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: deciphering the gut brain axis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 74(20), 3769–3787.

- Wickwire, E. M., Geiger-Brown, J., Scharf, S. M., & Drake, C. L. (2017). Shift Work and Shift Work Sleep Disorder: Clinical and Organizational Perspectives. *Chest*, 151(5), 1156–1172.
- Williams, W. P., 3rd, McLin, D. E., 3rd, Dressman, M. A., & Neubauer, D. N. (2016). Comparative Review of Approved Melatonin Agonists for the Treatment of Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders. *Pharmacotherapy*, 36(9), 1028–1041.
- Wittmann, M., Dinich, J., Merrow, M., & Roenneberg, T. (2006). Social jetlag: misalignment of biological and social time. *Chronobiology international*, 23(1-2), 497–509.
- Wu, D., Wang, H., Xie, L., & Hu, F. (2022). Cross-Talk Between Gut Microbiota and Adipose Tissues in Obesity and Related Metabolic Diseases. *Frontiers in endocrinology*, 13, 908868.
- Wu, G., Tang, W., He, Y., Hu, J., Gong, S., He, Z., Wei, G., Lv, L., Jiang, Y., Zhou, H., & Chen, P. (2018). Light exposure influences the diurnal oscillation of gut microbiota in mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 501(1), 16–23.
- Wu, H., Dunnett, S., Ho, Y. S., & Chang, R. C. (2019). The role of sleep deprivation and circadian rhythm disruption as risk factors of Alzheimer's disease. *Frontiers in neuroendocrinology*, 54, 100764.
- Yang, H., Liu, Y., Cai, R., Li, Y., & Gu, B. (2021). A narrative review of relationship between gut microbiota and neuropsychiatric disorders: mechanisms and clinical application of probiotics and prebiotics. *Annals of palliative medicine*, 10(2), 2304–2313.
- Yu, X., Rollins, D., Ruhn, K. A., Stubblefield, J. J., Green, C. B., Kashiwada, M., Rothman, P. B., Takahashi, J. S., & Hooper, L. V. (2013). TH17 cell differentiation is regulated by the circadian clock. *Science (New York, N.Y.)*, 342(6159), 727–730.
- Zaki, N. F. W., Spence, D. W., BaHammam, A. S., Pandi-Perumal, S. R., Cardinali, D. P., & Brown, G. M. (2018). Chronobiological theories of mood disorder. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 268(2), 107–118.
- Zarrinpar, A., Chaix, A., Yooseph, S., & Panda, S. (2014). Diet and feeding pattern affect the diurnal dynamics of the gut microbiome. *Cell metabolism*, 20(6), 1006–1017.
- Zhang P. (2022). Influence of Foods and Nutrition on the Gut Microbiome and Implications for Intestinal Health. *International journal of molecular sciences*, 23(17), 9588.
- Zisapel N. (2018). New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. *British journal of pharmacology*, 175(16), 3190–3199.

EKLER

Ek 1. Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.01.03-97230
Konu : 27/07/2021 tarihli dilekçeniz hk.

DOÇ. DR. MEHTAP ÜNLÜ SÖĞÜT
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

27/07/2021 tarihli dilekçenizde “Sirkadiyen Ritimleri Bozulmuş Farelerde Probiyotik Takviyesinin Bağırsak Geçirgenliği ve Diyabet ile İlişkili Parametreler Üzerine Etkilerinin DeneySEL Olarak Araştırılması” başlıklı 2021/26 nolu etik kurul onayı verilmiş olan projeden kalan doku ve serum örneklerinden “Sirkadiyen Ritimleri Bozulmuş Farelerde Probiyotik Takviyesinin Sirkadiyen Ritim Genleri ve Serum Zonulin Düzeyleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi” konulu yeni bir çalışma yapma talebiniz kurumumuzca uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZ GEÇMİŞ

Büşra Tepebaşı, Tokat Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik bölümünden 2018 tarihinde mezun oldu. 2019 yılında OMÜ Beslenme Bilimleri Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına başlamıştır. İyi derece İngilizce bilmektedir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : <https://orcid.org/0000-0002-2064-4861>

Yayınlar:

1. Sirkadiyen Ritim Bozulması ve Bağırsak Geçirgenliği İlişkisi Tam Metin Bildiri ve Sözlü Sunum 8. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi (UTSAK) 26.12.2021 TEPEBAŞI BÜŞRA, SÖĞÜT ÜNLÜ MEHTAP

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. Ünlü Söğüt, M., Tepebaşı, B. Sirkadiyen Ritimleri Bozulmuş Farelerde Probiyotik Takviyesinin Sirkadiyen Ritim Genleri ve Serum Zonulin Düzeyleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, PYO.SBF.1904.21.010.Yardımcı Araştırmacı, (2022-2023).