

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KALORİ KISITLAMASI UYGULANAN FARELERDE BİYOKİMYASAL
DEĞERLER**

Özge ÇAKICI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET.) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU

KONYA- 2014

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KALORİ KISITLAMASI UYGULANAN FARELERDE BİYOKİMYASAL
DEĞERLER**

Özge ÇAKICI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA (VET.) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU

KONYA- 2014

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Özge ÇAKICI tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya (Vet.)
Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Seyfullah HALILOĞLU
Selçuk Üniversitesi



Danışman: Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU
Selçuk Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Nurcan DÖNMEZ
Selçuk Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ
Enstitü Müdürü

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tefik TEKELİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Sağlıklı ve dengeli beslenme, canlı organizmada tüm metabolik aktivitenin düzenli bir şekilde sürdürebilmesi için kaçınılmaz bir olgudur. Dengesiz beslenme, toplum içerisinde sıklıkla enerji alınması ve harcanması arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak şekillenen ve gereksinim fazlası kalorinin depolanmasının sonucu ortaya çıkan obezite ile gündeme gelmektedir. Etiyolojisinde yüksek kalorili diyet alımları kadar hareket yetersizliği, genetik, stres, kronik ilaç kullanımı, metabolik hastalıklar gibi sekonder faktörler de rol oynamaktadır. Hızla gelişen teknolojiye bağlı olarak özellikle gelişmiş toplumlarda tempolu yaşam tarzının da etkisi ile gittikçe artan obezite oranı insan organizmasını olumsuz etkileyerek hiperlipidemi, koroner kalp hastalığı, diabet hipertansiyon, safra kesesi fonksiyon bozuklukları gibi birçok hastalığın oluşumunda predispoze riskler taşımaktadır. Son dönemlerde sözü edilen bu beslenme dengesizliklerine karşı toplumda biliçli ya da bilinçsiz bir şekilde kalori kısıtlamasına gidilerek obezitenin önlenmesi gayretleri gündeme gelmektedir. Kontrollü ve dengeli yapıldığı takdirde kalori kısıtlamasının birçok hastalığa karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmekte; bunun yanı sıra yaşlanmanın gecikmesi ve yaşlanmayabağlı çeşitli patolojilerin önlenmesi açısından da pozitif etkilerinin olduğu son yıllarda bu konuda giderek artan çalışmalarda ortaya konmaktadır.

Kalori kısıtlaması sürecinde kısıtlamanın derecesine göre organizmanın temel metabolik aktivitelerinde oluşan olumlu ve olumsuz değişimlerin incelenmesinin amaçlandığı bu yüksek lisans tez çalışması Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yürütülmüş olup, farklı iki düzeyde kalori kısıtlaması farklı gruplar halinde beslenen erkek farelerde denenmiş olup, belirli biyokimyasal değerlere etkileri araştırılmıştır. Çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202012 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çalışma konusunu önererek bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, tezin sonuçlanmasında katkılar sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU' na; deneysel çalışma aşamalarında bakım, besleme ve deneysel tüm uygulamalarda büyük yardımlarını gördüğüm Veteriner Hekim Nagehan ÖZGÖKÇEN, Dr. Erdal TAŞKIN, Dr. Halil YAVUZ, Arş. Gör. Hale ERGİN ve Vet. Hek. Müge DOĞAN a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
1. GİRİŞ	1
1.1. Temel Besin Öğeleri; Karbonhidrat, Lipit ve Protein	1
1.2. Kalori Kısıtlaması	3
1.2.1. Metabolik Etkileri	3
1.2.3. İmmunolojik Etkileri	8
1.2.4. Oksidatif Stresle İlişkisi	8
1.2.5. Kalori Kısıtlamasının Yaşlanmaya Etkisi	11
2. GEREÇ ve YÖNTEM	19
2.1. Gereç	19
2.1.1. Hayvan ve Yem Materyali	19
2.2. Yöntem	
2.2.1. Deneme Düzeni	19
2.2.2. Kan örneklerinin alınması ve analizler	21
2.2.2.1. LPO analizi	22
2.2.2.2. PC analizi	23
2.2.2.3. Diğer Kan Analizleri	23
2.3. İstatistik analizleri	23
3. BULGULAR	24
4. TARTIŞMA	33
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	38
6. ÖZET	39
7. SUMMARY	41
8. KAYNAKLAR	42
9. EKLER	46
10. ÖZGEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER

	Sayfa
Çizelge 1.1. İnsanlarda enerji rezervleri	2
Çizelge 1.2. İnsanlarda farklı düzeyde besin alımında plazma hormon ve substrat düzeyleri	5
Çizelge 2.1. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı	21
Çizelge 3.1. Çalışma gruplarında LPO değerleri ve istatistiksel değişimleri	25
Çizelge 3.2. Çalışma gruplarında PC değerleri ve istatistiksel değişimleri	26
Çizelge 3.3. Çalışma gruplarında glikoz değerleri ve istatistiksel değişimleri	27
Çizelge 3.4. Çalışma gruplarında AST değerleri ve istatistiksel değişimleri	28
Çizelge 3.5. Çalışma gruplarında HDL değerleri ve istatistiksel değişimleri	29
Çizelge 3.6. Çalışma gruplarında LDL değerleri ve istatistiksel değişimleri	30
Çizelge 3.7. Çalışma gruplarında trigliserit değerleri ve istatistiksel değişimleri	31
Çizelge 3.8. Çalışmada gruplarında canlı ağırlık değişimleri	32

ŞEKİLLER ve RESİMLER

Sayfa

Şekil 1.1. Kalori kısıtlamasının yaşlanma önleyici etkisinde leptinin nöroendokrin sinyali	4
Şekil 1.2. Aşırı kalori alımı ve temel metabolik döngüye etkileri	7
Şekil 1.3. Yaşlanma ve kalori kısıtlaması etkileşimi	12
Şekil 1.4. Beslenme ve metabolik- hormonal etkileşimi	14
Resim 2.1. Çalışmada oluşturulan deneme gruplarından bir örnek	20

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 3.1. Çalışma gruplarında LPO değişimleri	25
Grafik 3.2. Çalışma gruplarında PC değişimleri	26
Grafik 3.3. Çalışma gruplarında glikoz değişimleri	27
Grafik 3.4. Çalışma gruplarında AST değişimleri	28
Grafik 3.5. Çalışma gruplarında HDL değişimleri	29
Grafik 3.6. Çalışma gruplarında LDL değişimleri	30
Grafik 3.7. Çalışma gruplarında trigliserit değişimleri	31
Grafik 3.8. Çalışma gruplarında canlı ağırlık değişimleri	32

SİMGELER VE KISALTMALAR

AST	Aspartat Amino Transferaz
ATP	Adenozin trifosfat
CA	Canlı Ağırlık
CAT	Katalaz
CO₂	Karbondioksit
CRP	C- Reaktif Protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
mtDNA	Mitokondrial DNA
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon (redükte)
GSSH	Glutasyon (okside)
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Dansiteli Lipoprotein)
4-HNE	4-Hidroksinonenal
H₂O₂	Hidrojen peroksit
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Dansiteli Lipoprotein)
LPO	Lipid hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
µM	Mikro Molar
mg	Miligram
NO	Nitrik Oksit
OH*	Hidroksil radikali
PC	Protein Karbonil
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TCA	Trikarboksilik asit
TG	Trigliserit

1. GİRİŞ

Besinlerle alınan major enerji kaynakları karbonhidrat, yağ ve proteinlerdir. Bu besin maddelerinin mitokondrilerde karbondioksit ve suya kadar okside edilmesi ile ısı enerjisi ve adenzin trifosfat (ATP) üretilir. Kanda CO₂ akciğerlerde solunum yoluyla atılırken oluşan metabolik H₂O, idrar, ter ve diğer vücut sıvılarıyla organizmayı terk eder. ATP, bazal metabolizma, fiziksel kas aktiviteleri, hücre bölünmesi, üreme, tüm biyokimyasal reaksiyonlar, sindirim ve emilim başta olmak üzere enerjiye gereksinim gösteren tüm işlevler için gereken enerjidir (Harris ve Crabb 1997).

Karbonhidrat, lipit ve proteinler öncelikli olarak enerji amaçlı okside edilebilecek en küçük yapıtaşlarına, yani sırası ile glikoz, yağ asitleri ve aminoasitlere yıkımlanırlar. Takiben her üç besin ögesi, ortak ana yol olan trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne enerji amaçlı katılabilmek için asetilKoA'ya oksitlenir. Diğer bir ifade ile TCA döngüsü adı verilen ve bir dizi reaksiyonlar zincirinden oluşan ortak metabolik yol ile besin maddeleri (karbonhidrat, lipit ve protein) enerji üretilmesi amacı ile tümüyle CO₂'e kadar yıkımlanırlar. Oksidatif reaksiyonlar esnasında yakıtlardan kaybolan elektronlar, elektron taşıma zincirinde demir ve bakır tarafından aktive edilen enzimler (oksidazlar) aracılığı ile O₂'e aktarılarak, yine enerji gereksinimi altında adenzin di fosfat (ADP) ve inorganik fosfat (Pi)tan ATP elde edilir (Schwartz 1997).

1. 1. Temel Besin Ögeleri; Karbonhidrat, Lipit ve Proteinler

Besinlerle alınan en önemli karbonhidratlar nişasta, glikoz, sakkaroz, laktoz, fruktoz ve geviş getirenler için öncelikli olan selülozdur. Bunlar yanı sıra ramnoz, arabinoz gibi kaynaklarda vardır. Büyük karbonhidratlar sindirim kanalında hidrolitik olarak parçalanarak monosakkaridlere ve çoğunlukla en basit şeker olan glukozadönüştürülür. Enerji üretimi ile öncelikli yükümlü olan diğer bir ifade ile birincil görevi enerji üretimi olan besin ögesi karbonhidratlardır. Acil enerji gereksinimi karbonhidrattan sağlanır, çabuk okside edilebilen bu karbonhidratların organizmada CO₂ ve H₂O ya oksidasyonu ile yaklaşık 4 kcal/g enerji üretilebilir (Schwartz 1997).

Çizelge 1.1. İnsanlarda enerji rezervleri*

Depo Yakıt	Doku	Enerji Rezervi	
		(g)	(kcal)
Glikojen	Karaciğer	70	280
Glikojen	Kas	120	480
Glikoz	Vücut Sıvıları	20	80
Yağ	Yağ Doku	15.000	135.000
Protein	Kas	6.000	24.000

*Değerler 70 kg ağırlığında bir insan içindir, Karbonhidratlar 4kcal/g; yağlar 9kcal/g;proteinler4 kcal/g enerji sağlarlar

Organizmaya enerji eldesinde ikinci sırayı alan lipitler (triacilgliserol) ise bir gliserol molekülü ile esterleşmiş 3 yağasidinden oluşurlar. Yağlar, karbonhidrat ve proteinlere göre çok daha az oksijeniçerdiklerindendaharedükte durumdadırlar ve vücutta CO₂ ve H₂'ya tamamen okside edilmeleri ve susuz olarak sınırsız depo edilebilmeleri nedeni ileeşdeğer miktarda karbonhidrat veya proteinin verdiği enerjinin iki katından fazla; yaklaşık 9 kcal/g enerji vermektedirler. Örneğin adipöz dokudasu oranı ortalama %10-15 kadar iken, çizgili ya da düz kaslar % 80 lere varan oranda su içerirler. Hücre zar yapısına katılması, depo enerji kaynağı olması, spesifik hormonların sentezi, A, D, E ve K vitaminlerinin emilimi için gereken lipitler kısmen organizmada karbonhidrat ya daproteinlerden sentez edilebilirler (Chaney 1997).

Sağlıklı bir beslenme düzeninde günlük olarak gereksinim duyulan enerjinin %50-55 i karbonhidratlardan, % 25-30 si yağlardan (%15 tekli doymamış, %15 çoklu doymamış) geri kalan % 15 i de proteinlerden karşılanmalıdır (Hopfer1997). Özellikle bazı lipidlerin diyetle asgari bir düzeyde bulunması zorunludur ki; esansiyel yağ asitleri olarak bilinen ve sahip oldukları çift bağların özel düzenleniş şekilleri nedeni ile birçok canlı organizması tarafından sentez edilemeyen bu yağ asitleri, α -linoleik ve linolenik asitler olup bitkisel yağlarda, balık yağlarında, soya gibi bazı tahılgillerde yer alırlar. Özellikle biyolojik olarak etkin olan eikozapentaenoik asit (EPA) vedokzaheksaenoik asit (DHA) ler ise balık yağında yeteri oranda bulunurlar (Başpınar ve Kurtoğlu 2003).

Peptid bağları ile birbirine bağlanan farklı niteliklerdeki aminoasitler ise daha çok yapısal fonksiyonları ile özelleşmiş olan proteinleri şekillendirirler. Proteinler yapılarında karbon, hidrojen ve oksijene ek olarak, ağırlıklarının yaklaşık %16'sı kadar da azot içerirler. Proteinlerden organizmada CO_2 , H_2O ve NH_4^+ a tam oksidasyon ile ortalama 4 kcal/g enerji elde edilebilir (Coomes 1997).

Lipit ve glikojen (hayvansal depo karbonhidrat)lerden farklı olarak proteinler, yakıt kaynağı olmalarının ötesinde; öncelikli olarak fiziksel aktivite için kas proteini, enzimler ve de hücre-dokuların yapısal bileşenleri olarak görev yaparlar. Bu nedenlerle fonksiyonları açısından enerji amaçlı olarak yıkılabilecek vücut protein miktarı çok sınırlı olup vücut ağırlığının en fazla %8-9 unu geçmemelidir (Sprott 1997). Farklı bir veri olarak ifade edilirse bu değer, günlük yüksek kaliteli (esansiyel amino asitleri yeterince içeren) protein olarak yaklaşık 60 g/gün dür. Beslenmede hayvansal kaynaklı proteinler (süt, yumurta ile kırmızı-beyaz et proteinleri) esansiyel aminoasitleri büyük oranda içerirken, bitkisel besinlerdeki proteinler bazı esansiyel aminoasitlerce yetersiz olabilirler (Chaney 1997).

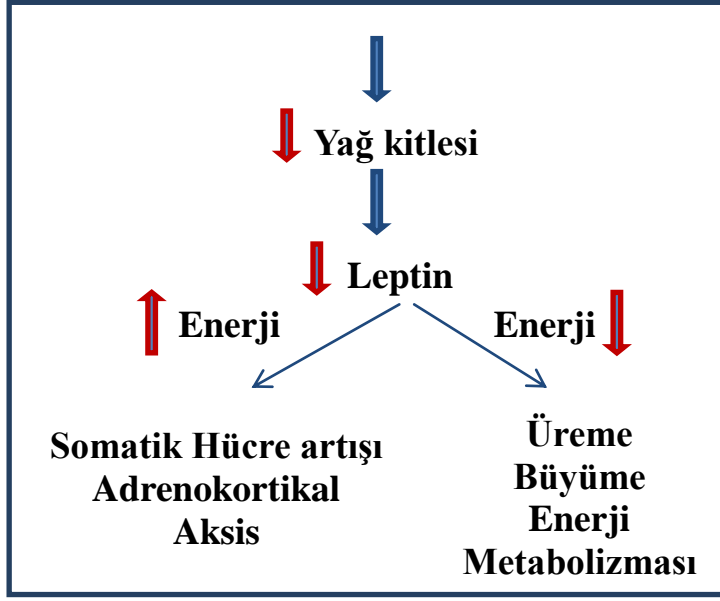
1.2. Kalori Kısıtlaması

Esansiyel besin alımı devam ederken, alınan kalenin miktar olarak azaltılması yani yetersiz beslenmeye ve organizmanın ihtiyacı olan besinlerin eksikliğine sebebiyet vermeden diyetin azaltılması işlemine kalori kısıtlaması adı verilmektedir (Weindruch ve ark 2001; Akman ve ark 2004). Kalori kısıtlaması, diğer ismi ile diyet kısıtlaması, beslenme bozukluğu oluşturmaksızın organizmaya alınan günlük kalenin azaltılmasıdır. Kalori kısıtlamasında glikolizis azalmakta, glikoneogenesis ve transaminasyon mekanizmaları hızlanmaktadır. Dolayısı ile glikolitik mekanizmalardan öte diğer besin maddelerinin oksidasyonu hızlanmaktadır. Örneğin fruktoz kullanımında etkili olan fruktokinaz enziminin kalori kısıtlaması uygulanan farelerde kontrol gruplarına oranla daha aktif olduğu yapılan çalışmada belirtilmiştir (Hagopian ve ark 2005).

1.2.1. Metabolik Etkileri

Kalori kısıtlamasının enerji döngüsü, protein döngüsü metabolizmalarını özellikle spesifik transaminazları aktive etmesinin (Hagopian ve ark 2003) yanı sıra antioksidan enzim aktivitelerini artırarak protein oksidasyonu, DNA oksidasyonu,

lipid peroksidasyonu gibi serbest radikal hasarlarını minimuma indirdiği, hücrel yaşlanma döngülerini yavaşlattığı; uzun süreli ve düzenli kalori kısıtlama alışkanlıklarının belirtilen bu mekanizmalar etkisi ile yaşam süresinde uzama oluşturduğu kemirgen, insan, ve diğer canlı türleri ile yapılan araştırmalarda kanıtlanmıştır (Xia ve ark 1994, Kim ve ark 1996, Merry 2002, Yu 2005).



Şekil 1.1. Kalori kısıtlamasının yaşlanma önleyici etkisinde leptinin nöroendokrin sinyali(Heilbronn ve Ravussion 2003).

Karbonhidrat alımının kısıtlanması glikolitik döngünün azalarak, glikoneogenetik yolun aktive edilmesi ile sonuçlanabilir (Çizelge 1.2). Bu metabolik düzen, transaminazların aktive edilmesini, proteinlerin normal sınırlar içerisinde (%10-25) enerji döngüsüne katılma hızının artmasını ve bu şekilde protein döngüsünün aktif şekilde işleyişi ile hasarlı proteinlerin organizmadan uzaklaştırılmasının sağlanmasını mümkün kılar (Rolfe ve Brown 1997, Lee ve ark 2002). Özellikle ilerleyen yaş ile birlikte azalan protein döngüsü ve hasarlı proteinlerdeki birikim, kalori kısıtlanmasının ileri yaş periyotlarında daha etkin oluşunun açıklaması olabilir (Lewis ve ark 1985, Spindler 2001).

Çizelge 1.2. İnsanlarda farklı düzeyde besin alımında plazma hormon ve substrat düzeyleri(Devlin T.M,)

Hormon	Tokluk	Emilimin	Açlık	Açlık
Substratlar		12 saat sonrası	(3 günlük)	(5 haftalık)
İnsulin	40	15	8	6
Glukagon	80	100	150	120
Insulin/Glikogon oranı	0,50	0,15	0,05	0,05
Glikoz	6,1	4,8	3,8	3,6
Yağ asitleri	0,14	0,6	1,2	1,4
Asetoasetat	0,04	0,05	0,4	1,3
Beta-hidroksi butirat	0,03	0,10	1,4	6,0
Laktat	2,5	0,7	0,7	0,6
Piruvat	0,25	0,06	0,04	0,03
Alanin	0,8	0,3	0,3	0,1
ATP	313	290	380	537

Kalori kısıtlamasının en belirgin etkilerinden biri de lipid profiline olan etkileridir. Bu konuda insanlar (Heilbonn ve Ravussion 2003, Fontana ve ark 2004) ve deney hayvan modellerinde (Lane ve ark 2001, Guo ve ark 2002, Stein ve ark 2003) yapılan araştırmalar ile aterosklerozis risk faktörlerinin 6 ay ve daha uzun kalori kısıtlaması uygulamalarının özellikle ileri yaş dönemlerinde belirgin azalma oluşturduğu; sistolik ve diyastolik basınç, LDL kolesterol, trigliserit, toplam kolesterol, trigliserit/HDL kolesterol değerlerinin kontrol gruplarına oranla düşük, HDL kolesterol oranlarının ise belirgin oranda yüksek olduğu belirtilmiştir.

Fontana ve ark (2004), kalori kısıtlaması uygulanan grupta günlük alınan ortalama 1100-1900 kcal nin % 26 sının protein, % 28 lik kısmının yağ ve % 46 sının da kompleks karbonhidratlardan elde edildiğini; kontrol grubu katılımcılarının ise klasik Amerikan toplumu beslenme şeklinde günlük 1900-3500 kcal olarak % 18 protein, % 32 yağ ve % 50 karbonhidrat kompleksinden enerji elde edecek bir beslenme alışkanlığı sürdürdüklerini; buna bağlı olarak ateroskleroz ile obesite ve insulin direnç gelişimi gibi risklerin kalori kısıtlaması uygulanan gruba oranla çok yüksek oranda ortaya çıktığını insanlar üzerinde deneysel olarak kanıtlamışlardır.

Trans yağ asitleri ile glisemik indeksi yüksek rafine şekerler, tatlılar, asitli ve şekerli içecekler gibi gıdalar kalori kısıtlamasında öncelikli olarak kaçınılması gereken yiyecek gruplarıdır (Fontana ve ark 2004). Glikoz ve insulin değerlerinde ani değişime neden olan bu yiyecek grupları organizmada adipoz dokunun yoğunlaşmasına ve protein dönüşümünün azalmasına dolayısı ile enerji döngüsündeki karbonhidrat-lipid ve protein katabolizma dengesinin bozulmasına neden olurlar (Heilbonn ve Ravussion 2003).

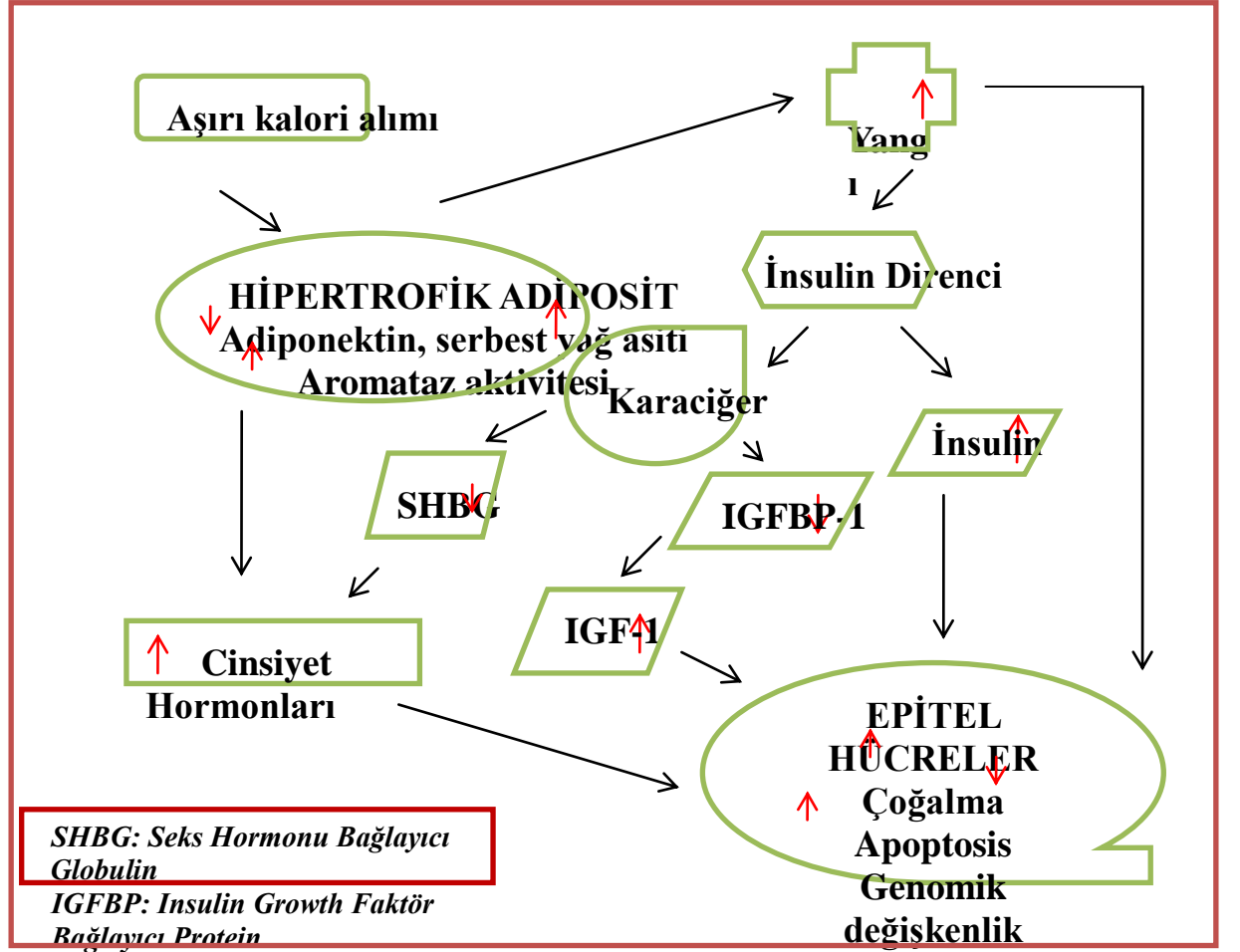
Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde, oksijen çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli olan enerjiyi sağlar. Fakat bu süreçte oksijenin % 1-5'i tam olarak suya dönüşmez, kısmi redüksiyonla hidrojen peroksit ile süperoksit ve hidroksil radikallerine dönüşür (Niki 1993, Gutteridge ve Halliwell 1993).

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların (Sitokrom P₄₅₀, Sitokrom_{b5}) oksidasyonundan kaynaklanır. Sitokrom P₄₅₀ tarafından yürütülen ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında da serbest radikaller oluşabilir (Öz ve Kurtoglu 2002).

Kalori kısıtlaması, enerji üretiminde rol oynayan hepatik glikolizdeki anahtar enzimlerin ekspresyonunda ve kas metabolizmasından sağlanan nitrojende azalmaya, glukoneogenezisde etkin olan enzimlerin ekspresyonunda ise artmaya yol açmaktadır (Longo ve Fontana 2009). Kalori kısıtlaması krebs siklusunda; sitrat sentaz, akonitaz, NAD bağımlı izositrat dehidrogenaz aktivitesini azaltırken, fumaraz aktivitesini artırır. Dolayısı ile sitrat, glutamat, α-ketoglutarat miktarlarını azaltırken; malat miktarı ile alfaketoglutarat/glutamat ve malat/alfa-ketoglutarat oranları artar. Ayrıca glukagon, pirüvat karboksilaz enzim aktivitesi yükselerek sonuçta beyin gibi glukozun acil gerekli olduğu dokulara glukoneogenez yoluyla glukoz sağlanır (Weindruch ve ark 2001).

Kalori kısıtlamasının, organlardaki fonksiyonel hücrelerde proliferasyona yol açtığı bildirilmiştir (Troyer ve ark 1998) Örneğin testiste leyding hücrelerinde, pankreasda insülin üreten hücrelerde, hipofizde somatotrop hücrelerde proliferasyonu arttırmaktadır. Ratlarda parsiyel hepatektomi sonrasında kronik orta

dereceli bir kalori kısıtlamasının karaciğerde daha hızlı rejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (Weindruch ve Sohal 1997).



Şekil 1.2. Aşırı kalori alımı ve temel metabolik döngüye etkileri

Kalori kısıtlaması uygulanan birçok hayvan deneyinde organizmalarda hem yağ kitlesinde hem de vücut kitlesinde gözle görülür küçülme izlenmiştir (Selman ve ark 2005). Uzun süren kalori kısıtlamalarında kan basıncı, kan glikoz seviyeleri, vücut ısısı, insülin seviyeleri ve kalp hızı düşmekte fakat kalori kısıtlaması uygulanan süreç uzun tutulduğundan deneyin alışma dönemi sonunda adaptasyonlar gelişmektedir. Uzun süreli olmayan kalori kısıtlaması çalışmalarında ise vücut metabolik hızı yavaşlayabilmekte ancak bu durumun geçici olduğu belirtilmektedir (Chacon ve ark 2004).

Kalori kısıtlamasının deneysel hayvan üzerinde olan birçok çalışmada genişbir hastalık spektrumunu engellediği tespit edilmiştir (Reiser ve ark 1995,

Merry 2005, Speakman ve Mitchell 2011). Vücuttaki hücreler yaşam fonksiyonlarını devam ettirmek için enerjiye gereksinim duymakla birlikte, uzun süreli aşırı kalori alımı hücre fonksiyonlarını yavaşlatmakta ve hormonal bozukluklar ile kardiyovasküler hastalıklar, tip 1 ve 2 diyabet ve kanser, ateroskleroz ve çeşitli nörodejeneratif bozukluklarla seyreden hastalıkların ortaya çıkma potansiyelini yükseltmektedir (Şekil 1.2).

1.2.3. İmmunolojik Etkileri

Kalori kısıtlaması uygulanan bireylerde C reaktif protein (CRP) ve diğer sitokinlerin düşük bulunmasının hücresel proliferasyon ve kronik enflamasyonlara bağlı hasarların azaldığının göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Guo ve ark 2002, Fontana ve ark 2004). Ayrıca yaşlanmaya bağlı immünite kaybını azalttığı bildirilmiştir (Heilbronn ve Ravussin 2003). Azalan proliferasyon ve inflamasyon dolaylı olarak damar endotelinde kalınlaşmanın, elastikiyet kaybının ve aterosklerozisinde önüne geçebilir (Weindruch ve ark 2001).

Yapılan deneysel çalışmalar (Speakman ve Mitchell 2011) kalori kısıtlaması ile lenfosit doğal savaşı (killer) hücrelerinin ve dalaktaki immun stimülasyon ajanlarının artışının uyarıldığını ortaya koymuştur.

1.2.4. Oksidatif Stresle İlişkisi

Yaşlanmada etkili olan serbest radikal teorisinde mitokondrial reaksiyonların artışına neden olan glikoz ve oksijen molekülleri sorumlu tutulmaktadır. Bu teori ilk olarak 1950'li yıllarda Denham Harman tarafından ortaya atılmıştır. Araştırmacı demirin paslanması örneğinde olduğu gibi canlı organizmanın da oksidatif fosforilasyon ile tahrip edildiğini ileri sürmüştür. İlerleyen dönemde 1970'li yıllarda serbest atomik oksijeni zararsız hale dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD) enziminin keşfi ile de araştırmalar mitokondri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu enzim süperoksit radikalini etki potansiyeli daha zayıf olan H₂O₂ (hidrojen peroksit) haline dönüştürür. Peroksidazlar etkisi ile de suya kadar indirgenirler (Öz ve Kurtoğlu 2002).

Oksidatif fosforilasyon basamakları mitokondrilerde gerçekleşirken mitokondrial enzim komplekslerinden oldukça kararsız bir yapı sergileyen serbest

oksijen radikalleri sızarak nükleik asit (DNA), protein ve hücre zarı lipidleri ile diğer biyomoleküllere hasar verici etkiler gösterirler. Serbest oksijen elektro-negativitesi oldukça yüksek olduğundan diğer moleküller ile kolay ve etkili bir şekilde kovalent bağ yaparak moleküler hasar oluşturabilir (Kargın ve Fidancı 2000).

Kalori kısıtlaması ile oksidatif hasar ve oksidan ajanların üretimi azalır. Kabul gören kuramlardan biri hafif kalori kısıtlamasının serbest radikallerin yol açtığı hasarları azalttığı yönündedir (Hagopian ve ark 2005, Maalouf ve ark 2009). Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen türleri (ROT) sıklıkla şekillenir ancak etkili bir antioksidan savunma zinciri ile zararsızlaştırılırlar. Başta mitokondriyal elektrontransportu (solunum zinciri) olmak üzere, fagositik aktivasyon, tüm anabolik-katabolik reaksiyonlar, aşırı fiziksel ve sportif aktivitelerde ROT lar oluşmakta ve oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllerde geridönüşümsüz hasarlar ortaya çıkarabilmektedir (Cunha ve ark 2011).

Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasitlerden meydana gelmiş IgG ve albumin gibi proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Sonuçta kükürt radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir (Aruoma 1994).

Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu ortaya çıkar (Kargın ve Fidancı 2000). Serbest radikaller; DNA'da baz modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına neden olarak hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (Aruoma 1994, Kargın ve Fidancı 2000).

Radikal oksijen türlerinin DNA'ya etkisi sonucunda çok çeşitli DNA hasar ürünleri oluşur. Günümüzde, 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG) oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmekte ve plazmadaki oranlarının yükselişi protein karbonil (PC) düzeylerinin dolayısı ile DNA hasarlarının yoğunluğunu belirtmektedir (Yu 2005).

Radikal oksijen türlerinin temel oluşum yerleri ve hasar yapıcı etkileri mitokondrilerdir. Yaşlanma ile organizmada yoğunlaşan oksidatif mitokondrial DNA (mtDNA) lezyonları mitokondriyal fonksiyon bozukluklarının başlıca nedenidir. Özellikle yaşla artan mtDNA delesyonları beyin ve iskelet kasında birikime uğramaktadır (Wickens 2001). Mitokondri disfonksiyonu biyoenerjide azalma, organdisfonksiyonu ve apopitoz ile sonuçlanır. Şiddetli ve kalıcı oksidatif stres varlığında gerçekleşen apopitoz, özellikle yaşlanma ile insidansı artan Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında artmaktadır (Smith ve ark 1994, Mitokondrial ROT oluşumunu ve DNA hasarını azaltan kalori kısıtlamasının bu mekanizmalarla yaşlanma hızını azalttığı deneysel birçok çalışma (Yang ve Schaich 1996, Drew ve ark 2003, Cunha ve ark 2011) ile de kanıtlanmış durumdadır.

Kalori kısıtlamasının bir diğer yararı da santral sinir sistemi üzerinde belirlenmiştir. Bu etki, kalori kısıtlamasının oksidatif stresi azaltması olup 40 gün süren ve % 60 kalori kısıtlamasının uygulandığı bir çalışmada (Xia ve ark 1994), beyinde ROT üretiminde azalma olduğu belirtilmiş, birçok dokuda oksidatif stresin azaldığı tespit edilmiş, buna karşın antioksidan sistemde bir artış gözlenememiştir. Beyinde sadece lipidperoksidasyonunu engellemesi ise kalori kısıtlamasının kısa dönem uygulanmasından dolayı olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada (Dixit ve ark 2006) ratlar obez, % 25 kalori kısıtlaması ve % 50 kalori kısıtlaması yapılan grup olmak üzere 3 farklı gruba ayrılmışlar; çalışma sonunda obez olan grubun diğer gruplara göre % 40 daha fazla yağ ve % 80 daha fazla mortalite oranı gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada kalori kısıtlamasının obeziteyi azalttığı, hayatta kalma oranını ise % 60 ile % 80 oranında artırdığı belirlenmiştir. Antioksidatif kapasite üzerine de kalori kısıtlamasının olumlu etki oluşturduğu, lipid peroksidasyonunun ve protein oksidasyon ürün miktarlarının düştüğü tespit edilmiştir.

Ad libitum beslenen hayvanlarla kalorisi kısıtlanmış hayvanlar kıyaslandığında dokularındaki protein, lipid, DNA gibi makro moleküller üzerine mitokondrial O_2 ve H_2O_2 üretim oranlarının ad libitum beslenen hayvanlarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Sohal ve Weindruch 1996, Weindruch ve Sohal 1997).

Diyet kısıtlaması ile yaşlılıkla beraber gelen katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon redüktaz (GRaz) gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki düşüş kısmen önlenmekte; ilaveten O₂ ve OH radikalleri azalmakta bunun sonucu olarak karaciğer hücre zarlarında meydana gelen lipid peroksidasyonu azalmaktadır. Kısaca kalori kısıtlaması sayesinde antioksidan savunma sistemi güçlendirmekte, serbest radikal üretimi ve hücre-doku-organ hattında oluşan dejenerasyonlar önlenmektedir (Wickens 2001).

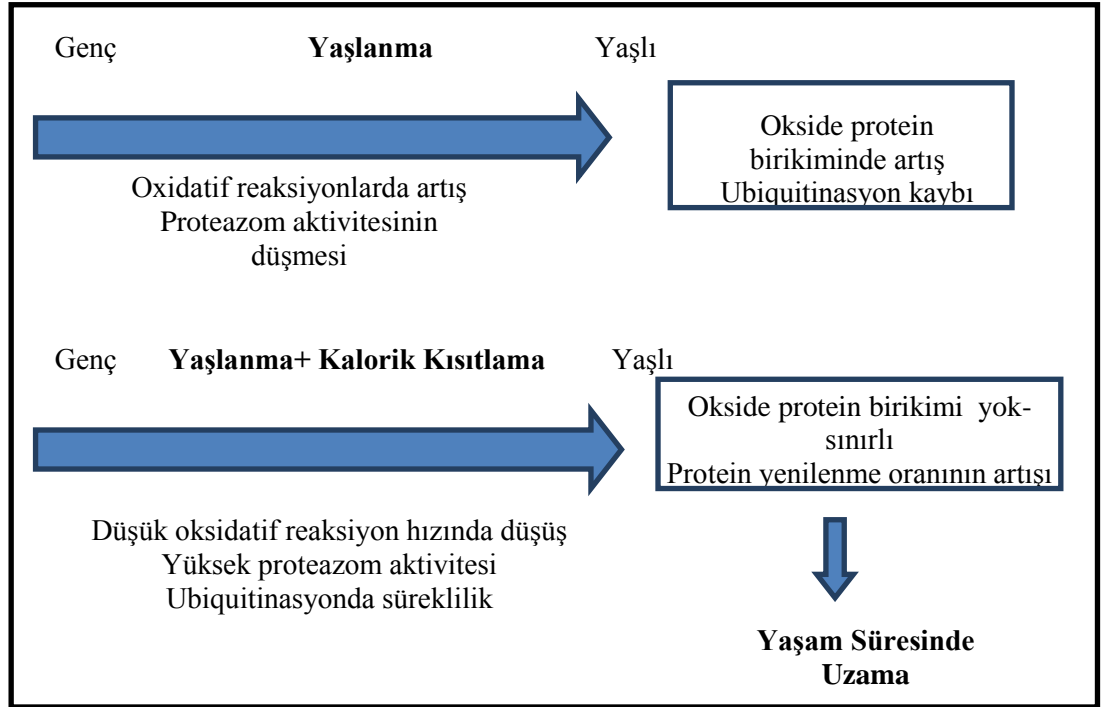
Organizmada yüksek glikoz konsantrasyonları özellikle glikoz moleküllerinin proteinlerle oluşturduğu nonenzimatik global glikasyon reaksiyonları serbest radikal hasarlarından daha etkili protein modifikasyonlarına neden olur. Bu tür aktif yapıdan uzak protein molekülleri normal hızda yıkımlanamadıkları için ağır metaller ve diğer metabolitleri de alarak birikir; başta sinir hücreleri olmak üzere farklı hücresel yapılar üzerinde patolojiler oluştururlar (Hagopian ve ark 2003). Kalori kısıtlaması glikasyon reaksiyonlarını kontrol edilebilirken aynı zamanda hücrede sirtuin adlı protein sentezini aktive ederek tahrip olmuş protein yıkılımının artması ve birikimlerinin önlenmesi sağlanmaktadır. Bu protein geninde oluşan aksaklıkların ya da genetik mutasyonların erken yaşlanmaya neden olduğu belirtilmektedir (Lee ve ark 1999, Cao ve ark 2001).

1.2.5. Kalori Kısıtlamasının Yaşlanmaya Etkisi

Yaşlanma organizmanın fizyolojik bir süreci olup, besin (kalori) alımı, bunun enerjiye dönüşümü, bu dönüşüm reaksiyonları süresince oluşan oksidatif reaksiyonlar, proton sızıntısı, serbest radikal oluşum yoğunluğu bu fizyolojik süreci belirgin olarak etkiler. Diğer bir deyişle bahsedilen bu reaksiyonların yoğunluğu ile serbest radikal oluşumu ve erken yaşlanma olguları doğru orantılı olarak seyrederek.

Farklı hayvan modelleri ile yürütülen çalışmalar enerji dönüşüm yoğunluğu yüksek olan beyin ve kas dokularında gerçekleşen oksidatif hasarların karaciğer ve böbrekdokularından daha yüksek olduğunu göstermektedir (Hagen ve ark 1997); hepatositlerde belirlenen yüksek proton sızıntısı ve oksidatif hasarların ise genç fare modellerine oranla yaşlı modellerde daha belirgin olduğu belirtilmektedir (Brookes ve ark 1998).

Kalori kısıtlamaları sonucu elde edilen veriler açıklanan bu mekanizmaların az kalori alımı ile daha az proton sızıntısı, daha az radikal üretimi ve oksidatif hasar oluşumu ile sonuçlandığını, bu etkilerin de yaşlanma sürecinde daha pozitif olarak göze çarptığını ortaya koymaktadır. Kalori kısıtlaması yanısıra kaliteli beslenme, membran yağ asiti profilini etkileyerek, oksidatif hasarlara karşı duyarlılığın azaltılmasında da etkin rol üstlenmektedir. Örneğin yaşlanma sürecinde membran duyarlılığı artmakta, membran linoleik asit konsantrasyonu azalmakta buna karşın oksidatif hasara karşı duyarlı olan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asit konsantrasyonu artarak membran hasarlarına karşı duyarlılık yükselmekte iken uzun süreli kalori kısıtlaması alışkanlıkları belirtilen bu olumsuz reaksiyonları önleyebilmektedir (Lee ve ark 1999).



Şekil 1.3. Yaşlanma ve kalori kısıtlaması etkileşimi

Kemirgenlerde yapılan bir çalışmada, normal besinin % 60 oranında kısıtlanması ile yaklaşık 40 ay olan ömrün 56 ay'a kadar çıkarılması başarılmıştır (Heilbonn ve Ravussion 2003).Deney hayvanlarında yapılan çalışmalara göre, günlük kalorinin 1/3 oranında azaltılması ömrün belirli oranda uzamasını sağlayabilmektedir (Merry 2005).

Albino sıçanlarda yapılan çalışmalarda normal diyetle beslenenlerin ortalama 23 ay; maksimum olarak ta 33 ay yaşadıkları belirlenmiştir. Ancak, 1/3 oranında kalori kısıtlaması uygulanan grupta ortalama ömür 33 ay; maksimum ömür ise 45 ay olarak bulunmuş ve bu grupta genç kalma süresinin de arttığı tespit edilmiştir. Genç kalmada ölçüt olarak çevresel olarak uygulanan faktörlere karşı gelişen yanıtlar dikkate alınmıştır. Maymunlar da ise kontrol grubu için normal diyet günde 688 kalori iken; deney grubuna günde 477 kalorilik diyet verilmiş, yani 1/3 oranında kısıntı yapılmıştır. Sonuçta, kısıtlı diyetle beslenenlerde kan basıncı, kan glikozu, insulin seviyesi, trigliseritler ve vücut ağırlığının azaldığı görülmüştür. Benzer şekilde mortalite oranı da azalmıştır (Merry 2005).

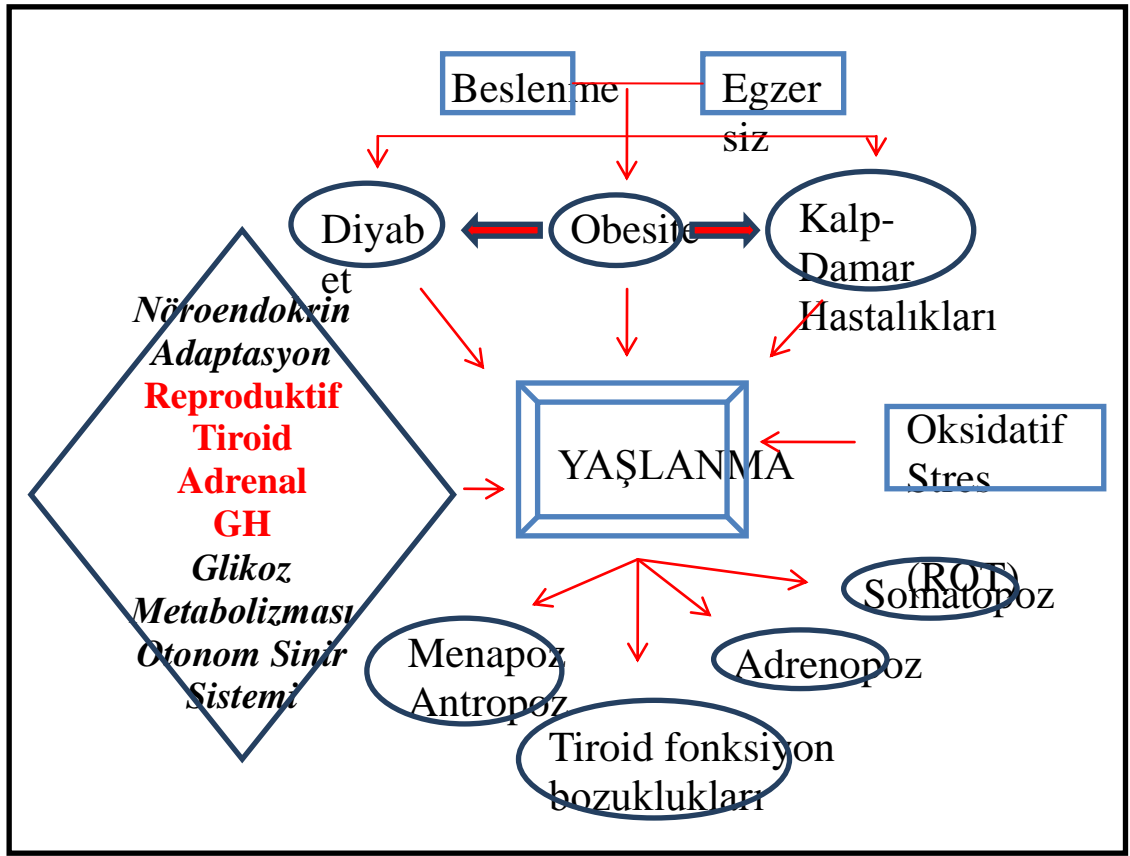
Antioksidan savunmada kalori kısıtlamasının etkilerinin sadece redükte antioksidan unsurların artmasını değil, aynı zamanda okside olmuş ve prooksidan haline dönüşmüş maddelerin oranlarında da azalma sağladığı belirtilmektedir. Bu amaçla antioksidan/prooksidan oranları sonuçların değerlendirilmesinde daha anlamlı bulunmaktadır (Rebrin ve ark 2003).

Laboratuvar hayvan modellerinde yapılan geniş çaplı denemeler ortalama %30-50 oranında uygulanan kalori kısıtlamalarının kan glikoz ve insulin düzeylerinde düşme eğilimi oluştururken, insulin duyarlılığının arttığını göstermiştir. Uzun süreli ve düzenli kalori kısıtlamasının ise özellikle glikolizis, glikoneogenesis, amino asit metabolizması, krebs döngüsü ve yağ asiti metabolizması enzimlerinde düzenleyici etkiler oluşturduğu (Weindruch ve ark 2001), yaşlılıkla ortaya çıkan nöroendokrin sistem düzensizliklerini de (şekil 1.4) minimize ettiği belirtilmiştir (Redman ve Ravussin 2009).

Bunun yanısıra kalori kısıtlaması uygulamalarında diyet kalitesinden ödün verilmeden, protein, yağ gibi besinsel bileşenlerin niteliğinin de önem taşıdığı belirtilmelidir. Örneğin uzun zincirli omega 3 yağ asitleri otoimmünite, kalp-damar hastalıkları, kanser gelişimi gibi hastalıkların insidansını azaltmakta (Fernandes 1994, Troyer ve ark 1998) ve kalori kısıtlamasının yaşlılıktaki etkilerini daha belirgin olarak ortaya çıkarmaktadır (Weindruch ve ark 2001).

Uzun yıllardan bu yana otoimmün ve kalp-damar hastalıklarından korunmada omega-6 yağ asitlerinin yüksek, doymuş yağların ise düşük miktarlarda tüketilmesi

gerektiği savunulurken, son yıllarda omega-6 yağ asitlerinin pro-inflamatuvar etkili olduğu, otoimmün hastalıkların ve bazı kanser türlerinin gelişimini hızlandırılabilirdiği (Fernandes 1994), bitkisel ve balık yağı kaynaklı omega-3 yağ asitlerinin ise pro-inflamatuvar sitokin düzeylerini düşürerek oto-immün böbrek rahatsızlıkları ve kalp damar hastalıklarına karşı duyarlılığı azalttığı (Troyer ve ark 1998), kalori kısıtlaması çalışmalarında diyet yağ kaynaklarının önem arz ettiği tanımlanmaktadır (Weindruch ve ark 2001).



Şekil 1.4. Beslenme ve metabolik-hormonal etkileşimi

Mitokondrial elektron transport sisteminde mitokondri membran yapısı ve yağ asiti konsantrasyonu, şekillenen elektron sızıntı oranlarında ve eşlenmemiş (uncoupled) protein (UCP) konsantrasyonları üzerinde etkindir. Bu proteinler UCP-2 and UCP-3 olup, eşleşmeyi bozan proteinlerdir, enerji üretimini kısıtlarlar, ısı oluşumunu artırır (Merry 2002).

Farklı maymun türlerinde yapılan kalori kısıtlaması çalışmalarında (Cutler ve ark 1992, Lane ve ark 1995) kısa süreli kalori kısıtlamasının insulin, glikoz ve (Hemoglobin A_{1c}) HbA_{1c} konsantrasyonları yönünden kontrol gruplarına oranla

anlamli farklılıklar oluşturmadiğini, ancak 7 yıl süre gibi uzun kalori kısıtlaması uygulamalarından sonra belirtilen değerlerde anlamlı ve düzenli düşüşler şekillendiği belirtilmektedir.

İnsanlarda (Markovic ve ark 1998) ve kemirgenlerde (Cartee ve Dean 1994) yürütölen diğer çalışmalarda ise kısa süreli kalori kısıtlamasında bile belirgin etkiler gözlendiği, insanlarda yağ kitlesinde belirgin azalma, glikoz toleransı, insülin duyarlılığı, kan basıncı gibi parametrelerde de düzenli bir seyir oluştuğu, kolesterol ve lipidprofilinin dengelendiği gözlenmiştir.

Kalori kısıtlamasının ilk şekillenen belirgin etkisi kan glikoz düzeyine olan etkidir. Kanda serbest dolaşan glikoz nükleik asitlerle aldehidik formu, aminoasitlerle ise Schiff baz kondenzasyonu aracılığı ile reaksiyona girer, dikarbonil fragmentlarının da katılımı ile toksik glikasyon son ürünlerine kadar ilerleyebilir (Lee ve Cerami 1992).

Deneysel ya da spontan diyabetik modellerde gözlenen böbrek, damar, göz ve de sinir patolojilerinin ve diğer yaşlanma belirtilerinin altında yatan neden bahsedilen bu glikasyon reaksiyonlarıdır (Masoro ve ark 1989).

Diyabetik olgulardan elde edilen serumlarda glikozile albumin değerlerinin yüksekliği göze çarpmış (Guthrow ve ark 1979), deneysel olarak intravenöz glikozile albumin enjeksiyonu ile diyabetik nefropati bulgularının canlandığı gözlenmiştir (Mc Verry ve ark 1980, Ziyadeh ve Cohen 1993, Vlassara ve ark 1994). Bu reaksiyonlar ve sonuçta oluşan nöropati Alzheimer, Parkinson gibi hastalıklara karşı insidansı yükseltirken, Alzheimer hastalarında beyindeki senil plaklarda ve nörofibrillerde maillard reaksiyon son ürünlerinden piralin ve pentosidin düzeylerinin yaşlı ancak sağlıklı bireylere oranla oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (Smith ve ark 1994).

Kalori kısıtlaması bireylerde aynı zamanda motor fonksiyonların, hafızanın zayıflaması, unutkanlığın artması gibi nörobiyolojik bozuklukların oluşum insidansını düşürebilir (Ingram ve ark 1987, Stewart ve ark 1989, Pitsikas ve ark 1990, Forster ve Lal 1999).

Mayalarda ise kalori kısıtlaması ile fermentasyon respirasyonunun metabolik düzeninin dengelenmesi (Oliveira ve ark 2008, Cunha ve ark 2011) otofajik

fonksiyonlarla hasarlı moleküllerin temizlenme hızının artırılması (Goldberg ve ark 2009) metabolik stres direncinin artması gibi pozitif etkiler elde edilmiştir (Alvers ve ark 2009). Mayalardan *Sacharomyces cerevisiae* yaşayan tüm canlı organizmalar için örnek teşkil edebilecek metabolik bir düzen gösterebilmektedir. Örneğin kalori kısıtlamasının mayalarda metazoan aşamasında yaşam ömrünü uzattığı, replikatif ve kronolojik yaşam oranını yükselttiği belirtilmiştir (Fabrizio ve ark 2005).

Proteazomlar, büyük protein yapılardan oluşan moleküllerdir. Bu yapılar, ökaryot canlılarda, arkealarda ve çoğu bakteri türünde yer almaktadır. Ökaryot yapılı canlılarda bu yapılar çekirdekte ve sitoplazmada bulunur. Proteazomların genel görevi, hasar görmüş veya işe yaramayan proteinleri, proteoliz adı verilen reaksiyon ve peptid bağlarını kırarak çalışan enzimler aracılığıyla vücuttan atmaktır. Proteazomlar, hücrelerin bağlanamamış proteinleri atmasını ve özelleşmiş proteinlerin derişiminin kontrol edilmesini sağlayan büyük bir sistemin parçalarıdır. Bu reaksiyonlar zincirinde işlev gören ana üniteler ise ubiquitin-proteazom kompleksleridir (Cunha ve ark 2011).

Mayalarda yapılan araştırmalarda kalori kısıtlaması uygulanan maya hücrelerinde bu protein kompleks aktivitesinin kontrol grubu yaşlı maya hücrelerine oranla belirgin artış gösterdiği, protein oksidasyon göstergesi olan protein karbonil miktarlarında düşüş şekillendiği saptanmıştır (Cunha ve ark 2011). Benzer şekilde kalori kısıtlaması uygulanan farklı denek modellerinde H_2O_2 oranının düştüğü, redükte glutasyon (GSH) oranının yükselerek okside glutasyonun (GSSG) belirgin oranda düşüş gösterdiği de belirtilmektedir (Agarwal ve ark 2005, Sharma ve ark 2011).

İki veya daha fazla mikromolekül, kovalent veya hidrojen bağlarıyla birbirlerine bağlanınca yaşlılıkta görülen değişiklikler belirmeye başlar. Çapraz bağlantıların zamanla arttığı kabul edilir. Böylece moleküler agregasyon ve immobilizasyon artar. Neticede fonksiyon yapamayan molekül yığınları meydana gelir. Kollajen gibi moleküller arasında çapraz bağlantıların olması elastikliği geçirgenliği ve eriyebilme özelliğini azaltır. Böylece hücre dışı alanlarda viskozite artar ve artık maddeler hücrelerden kolaylıkla atılamaz; besin maddeleri hücrelere taşınamaz. Böbreklerde glomerül fonksiyonları bozulur, arterlerin elastikliği azalır.

Enzimatik olmayan yolla glikoz molekülleri proteinlerle çapraz bağlantılar kurar, şekillenen bu glikozile proteinler organizma yaşının ilerlemesi ile birikir ve fonksiyonel olmayan protein yoğunluğu artar, enzim inaktivasyonlarına bağlı metabolik bozukluklar gözlenir. Özellikle diyabetli hastalarda gözlenen sekonder bozukluklar bu tip reaksiyonların bir sonucudur (Scrofano ve ark 1998). Özellikle yaşlı ve kalori kısıtlaması uygulanmayan farelerde oluşturulan hiperglisemi aynı yaştaki kısıtlama uygulanmış fare modellerine oranla glikozile hemoglobinin düzeylerinin normalden daha yüksek düzeylere çıkması ile sonuçlanmıştır (Reiser ve ark 1995).

Glikasyon enzimlerde şekillendiği takdirde enzimatik aktivite kaybı şekillenir, protein kısımlarında yıkımlanmaya olan eğilim artar. Organizmada en önemli glikasyon reaksiyonlarından biri HbA_{1c} nin non enzimatik glikasyonudur. Bu reaksiyon yüksek kan glikoz konsantrasyonlarında glikoz ve valin aminoasitinin N terminali arasında şiff bazı şekillenmesi ile valine bağlı 1- deoksi fruktoz oluşumunu kapsar ve oluşan yeni protein yapısı HbA_{1c} adını alır. Kontrol altına alınamayan diyabet olgularında yüksek seyreden kan glikoz konsantrasyonlarına bağlı olarak şekillenen ve değerli bir indeks olarak kabul edilen HbA_{1c} düzeyleri tedaviye yanıt veren diyabetlilerde ise düşük düzeylerde seyreder (Brownlee 1992, Lysons 1993)

Yine serbest radikaller etkisi ile lipidlerde oluşan peroksidasyon olgularında sekonder olarak hidrokarbonlar, epoksitler, aldehit ve ketonlar ile karboksilik asit gibi toksik dekompozisyon ürünleri açığa çıkar, membran akışkanlığı yitilir, yaşla beraber daha da artan membran geçirgenliği, reseptör sinyal duyarlılığı, oksidatif fosforilasyon etkinliği gibi spesifik mekanizmalar aksar (Merry 2002). Kalorik kısıtlama ile özellikle yaşlanma periyodunda karaciğer (Yu ve ark 1992, Kim ve ark 1996), beyin (Choi ve Yu 1995), kardiyak kas (Lee ve ark 1999) mitokondrial ve mikrozomal membran değişikliklerinin en aza indirildiği belirtilmiştir.

Sonuç olarak aşırı kalori alımında artış gösteren radikal türleri aşağıda belirtilen bozukluklarla birtakım hastalıklara yol açabilirken, düzenli ve süreklilik arz eden kalori kısıtlamaları bu bozuklukları yavaşlatabilir:

Bu bozukluklar;

Hücre zarındaki lipit ve proteinlerin parçalanarak hücrenin bütünlüğünün bozulması, zar yapısının sertleşmesine ve görev yapamaması,

Çekirdek zarının parçalanması ile genetik materyalde oluşabilecek mutasyonlar Bağışıklık sistemindeki hücrelerin ölümü ve kronik hastalıklardır.

Sunulan tez çalışmasında 6-8 aylık yaştaki erkek farelerde (Swiss Albino) 60 gün süreli olarak %40 ve %60 oranlarında yem (kalori) kısıtlaması uygulanmış; kan lipit peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz gibi temel biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık değerlerine etkileri araştırılarak elde edilen değerler ad libitum beslenen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan ve Yem Materyali

Araştırmada Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde üretilen 6-8 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 96 adet erkek beyaz fare (Albino Swiss) kullanıldı. Hayvanlar deneme düzeninde açıklanan şekilde gruplandırılarak besin madde, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan ticari bir firmadan temin edilen standart fare yemi ile beslendiler.

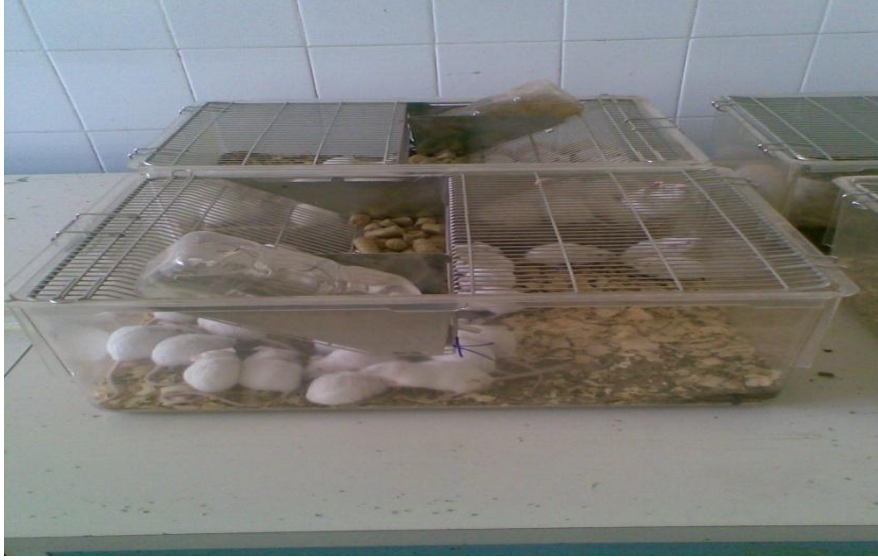
Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde ısı ayarlı odalarda yürütüldü. Deneme SÜVFEK (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul) tarafından onay alınarak (No: 2012/010) gerçekleştirilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Deneme Düzeni

Canlı ağırlık tartımları yapılarak eşit sayıda ve mümkün olduğunca homojen canlı ağırlık ortalamasına göre 3 gruba ayrılan farelerden herbir gruptan 8 er adedinden deneme başlangıcı (1. gün) kan alımları intra kardiyak yöntemle yapıldı. Bu amaçla farelere eter anestezisi uygulandı.

Denemede tablo 2.1 de belirtildiği gibi; 1. kontrol, 2. %40 yem kısıtlaması uygulanan ve 3. % 60 yem kısıtlaması uygulanan grup olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Her bir grup ta 4 er alt gruba bölünerek kafes başına düşen hayvan sayısı azaltıldı. Bu şekilde her bir kafese deneme başında 8 fare yerleştirildi.



Resim 2.1. Çalışmada oluşturulan deneme gruplarından bir örnek

Adaptasyon periyodu olarak ilk 10 günlük periyotta 2. ve 3. gruplar için sırası ile % 20 ve % 30 olarak başlatılan yem kısıtlaması kademeli olarak artırılarak % 40 ve % 60 oranlarına ulaşıldı. Farelerin genel durumlarında herhangi bir olumsuzluk oluşmadığının gözlemlendiği bu adaptasyon periyodunu takiben 60 gün devam eden deneme periyoduna geçildi

Kalori kısıtlaması uygulamasında kontrol grubu dışında kalan deneme gruplarına (2. ve 3. gruplar) farelerin normal şartlarda ortalama günlük 5 g yem tüketimine sahip olduklarından (Poyraz 2000), % 40 ve % 60 oranlarında yem kısıtlaması için gereken günlük miktarlar kafes başına düşen hayvan sayısı da dikkate alınarak hesaplandı. Belirtilen oranlardaki kısıtlamaya karşılık gelen yem miktarları deneme gruplarında sabah ve akşam olmak üzere 2 öğün halinde bölünerek uygulandı.

Fareler orijinal polietilen fare-rat kafeslerinde bakım ve beslenmeye tabi tutuldular. Altık ve suluk temizlikleri ise haftalık olarak gerçekleştirildi. Deneme süresince farelerin barındırıldığı ortam sıcaklığı ise 25 °C olarak ayarlandı.

Çizelge 2.1. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı.

Grup	n (deneme başlangıcı)	Kalorik Kısıtlama
1.Grup(Kontrol)	32	--
2. Grup	32	(%40)
3. Grup	32	(%60)

Deneme başlangıcına ilaveten deneme ortasında (30.gün) ve sonunda (60.gün) olmak üzere iki kez daha intrakardiyak kan alımı gerçekleştirildi. Canlı ağırlık tartımları ise 15 er günlük aralıklarla gerçekleştirildi.Kan alımları sonrasında her fare için ölüm gerçekleştiğinden kan alımı yapılan fareler için herhangi bir ötenazi yöntemine başvurulmadı.

2.2.2. Kan örneklerinin alınması ve analizler

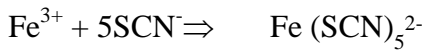
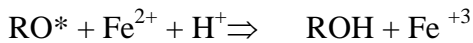
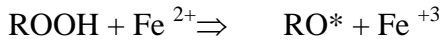
Araştırma başlangıcı (1.gün), ortası (30.gün) ve sonunda (60.gün) eter anestezisi ile uyutulan farelerden kardiyak punksiyonla alınan kanlar, LPO, PC, glikoz, HDL-LDL kolesterol, trigliserit, parametreleri ile AST enzim analizleri için heparinli polietilen tüplere aktarılarak 3000 devirde +4 °C de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları elde edildi;elde edilen bu plazmalar analize kadar -80°C'de saklandı.

Belirtilen biyokimyasal değerlerin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntemle çalışan ticari kitlerden (Oxis Research) yararlanılarak mikro plak okuyucuda (Biotek ELx800 USA) absorbans verileri elde edilerek, değerler hesaplandı.

2.2.2.1. LPO analizi

Lipit peroksidasyonunun belirlenmesinde geleneksel olarak günümüze kadar çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'nın oksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi aldehitlerin ölçümü esas alınmaktaydı. MDA ve benzer aldehitlerin oldukça dayanıksız olmaları, reaksiyonlar esnasında değişik geçiş metal iyonlarına göre farklı reaksiyon vermeleri gibi nedenlerle güvenilir sonuçlar alınmamaktadır. Örneğin kolesterol ve oleik asit gibi hücrel lipitlerden şekillenen hidroperoksitlerin yıkılımları ile MDA ve 4-HNE gibi ürünler şekillenmez, buna bağlı olarak MDA ölçümleri beklenenin altında sonuçlar verebilirken, kan pıhtılaşması (tromboksan sentaz aktivitesi) ve trombosit aktivitesi esnasında bile ng/ml düzeylerinde şekillenebilen MDA, yüksek konsantrasyonlarda ölçülebilir (Pryor ve Porter 1990). Belirtilen bu nedenlerle günümüzde artık sadece lipitlerden oluşan peroksidasyonun tanımlanması ve tayini esas alınmakta ve bu amaçla LPO değerleri kullanılmaktadır.

Hidroperoksitler ferro demir ile reaksiyona girerler ve ferrik demiri oluştururlar. Oluşan ferrik demir iyonları da tiyosiyanatlar ile reaksiyona girerek renkli demirsiyanatları verirler.



Ortamdaki endojen ferrik demir iyonlarından ya da H₂O₂ ile interferensten oluşacak hatalar ise ekstraksiyonların klorofom içerisinde yapılması ile önlenmekte ve böylece sadece lipitlerden oluşan hidroperoksitler (LPO) değerlendirilmektedir.

Çalışmada örneklerin LPO değerleri, test kitleri (Cayman Chemical Company, Michigan 48108) kullanılarak spektrofotometrik olarak (Shimadzu- UV 2100 Japan) 500 nm de elde edilen absorbansların standart eğri grafiğine uyarlanması ile belirlendi.

2.2.2.2. PC analizi:

Farklı etkilerle organizmada ortaya çıkan proteinlerin oksidasyonu kovalent modifikasyon sonucu şekillenir ve oksidasyon sonucunda protein karbonil deriveleri şekillenir. Özellikleprolin, arjinin, lizin ve treonin karbonil deriveleri kimyasal olarak stabil olup protein oksidasyonunun belirteçleri olarak değerlendirilebilirler.

Çalışmada protein karbonil düzeyleri plazmada OxiSelect Protein Karbonil Spektrofotometrik Assay (Cell Biolabs, Inc.) test kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Testte temel prensip dinitrofenilhidrazinin (DNPH) protein karbonil derivelerinin karbonil grubu ile reaksiyona girmesi ile şekillenen protein hidrazonların spektrofotometrik olarak 375 nm de ölçülmesidir.

2.2.2.3. Diğer Kan Analizleri

HDL-LDL kolesterol, trigliserit, glikoz değerleri ile AST enzim parametreleri ise yine spektrofotometrik yöntem ile (Biotek ELx800 USA) test kitleri (Spinreact, Spain) kullanılarak mikro plak okuyucularda elde edilen absorbanlar yardımı ile belirlendi.

2.3. İstatistik analizleri

İncelenen parametreler açısından gruplar ve kan alım periyotları arası farklılıkların tespiti için ayrı ayrı tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) gerçekleştirildi. Saptanan farklılıkların önem düzeyleri ise Duncan Multiple Range testine göre belirlendi (SPSS 21).

3. BULGULAR

Çalışmada elde edilen verilerin varyans analizi ve Duncan testi sonuçları ile gruplar arasında elde edilen istatistiksel sonuçlar çizelge ve grafikler halinde sunulmuştur. Denemede her bir parametre için 1.,30 ve 60. gün değerleri elde edilmiş, deneme grupları (1. 2. ve 3. gruplar) ile kan alım periyotları arasındaki değerlerin karşılaştırılması için varyans analizi uygulanmıştır.

Çizelge ve grafikler incelendiğinde; özellikle 1. gün değerlerinde bütün parametreler yönünden gruplar arasında farklılık saptanmamış olması, deneme başlangıcında gruplara rastgele dağıtılmış olan aynı yaştaki ve canlı ağırlık yönünden homojen olan farelerin metabolik yönden farklı seyir göstermedikleri ve deneme süresince elde edilen değişikliklerde bireysel farklılıkların etkisinin olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir.

Deneme süresince ad libitum yem tüketen kontrol grubu açısından incelendiğinde de 1., 30. ve 60. gün değerlerinde HDL hariç diğer parametrelerde herhangi bir farklılık şekillenmediği görülmektedir.

Buna karşın %40 kısıtlama uygulanan 2.grup değerlerinde ise tüm parametrelerde dönemler arasında oldukça anlamlı değişiklikler izlenmiştir; benzer farklılıklar %60 kısıtlama uygulanan 3. grupta da AST ve glikoz dışında kalan parametrelerde de gözlenmiştir.

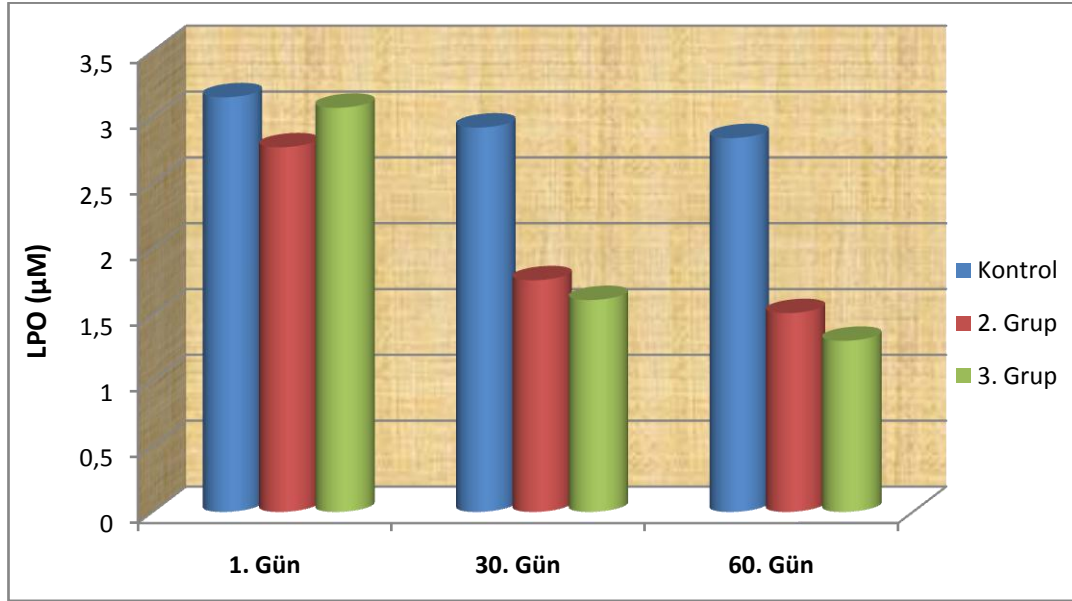
Gruplararası farklılıklar (P1) değerlerine göre HDL hariç diğer tüm parametrelerde 60 gün değerlerinin belirgin farklılıklar oluşturduğu görülmüş; sadece AST ve glikoz değerlerindeki farklılığın 60. gün ile sınırlı kaldığı gözlenmiştir. Genel bir ifade ile de deneme sonu (60. gün) itibarı ile tüm kan değerlerinde deneme başlangıcına göre pozitif anlamda değişiklikler saptanmıştır.

Canlı ağırlık değişimleri (Çizelge-Grafik 3.8) incelendiğinde gruplararası tüm tartım dönemlerinde azalan bir canlı ağırlık seyrinin olduğu ve deneme sonunda kontrol ve deneme gruplarındaki farklılıkların en belirgin düzeyine ulaştığı görülmektedir.

Çizelge 3.1. Çalışmadan elde edilen LPO değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
LPO(μ M)	1.gün	3,15 \pm 0,14	2,77 \pm 0,13 ^A	3,07 \pm 0,15 ^A	0,155
	30.gün	2,92 \pm 0,08a	1,76 \pm 0,07b ^B	1,61 \pm 0,07b ^B	0,000
	60.gün	2,84 \pm 0,14a	1,51 \pm 0,05b ^B	1,28 \pm 0,12b ^C	0,000
P ₂	0,218	0,000	0,000		

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

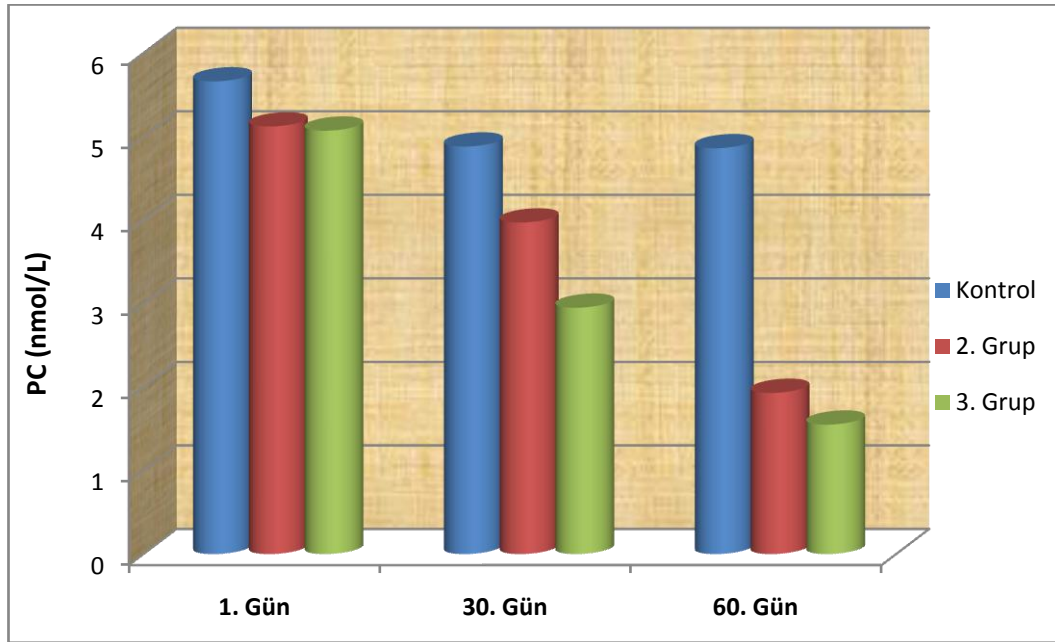


Grafik 3.1. Çalışma gruplarında LPO değişimleri

Çizelge 3.2. Çalışma gruplarında PC değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup	2.grup	3.grup	P ₁
		(Kontrol)			
	1.gün	5,66±0,30	5,13±0,34 ^A	5,07±0,21 ^A	0,306
PC(nmol/l)	30.gün	4,88±0,32a	3,97±0,15b ^B	2,95±0,14c ^B	0,000
	60.gün	4,86±0,19a	1,93±0,14b ^C	1,55±0,14b ^C	0,000
	P ₂	0,109	0,000	0,000	

P₁ Gruplararası değişimler (a-c); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

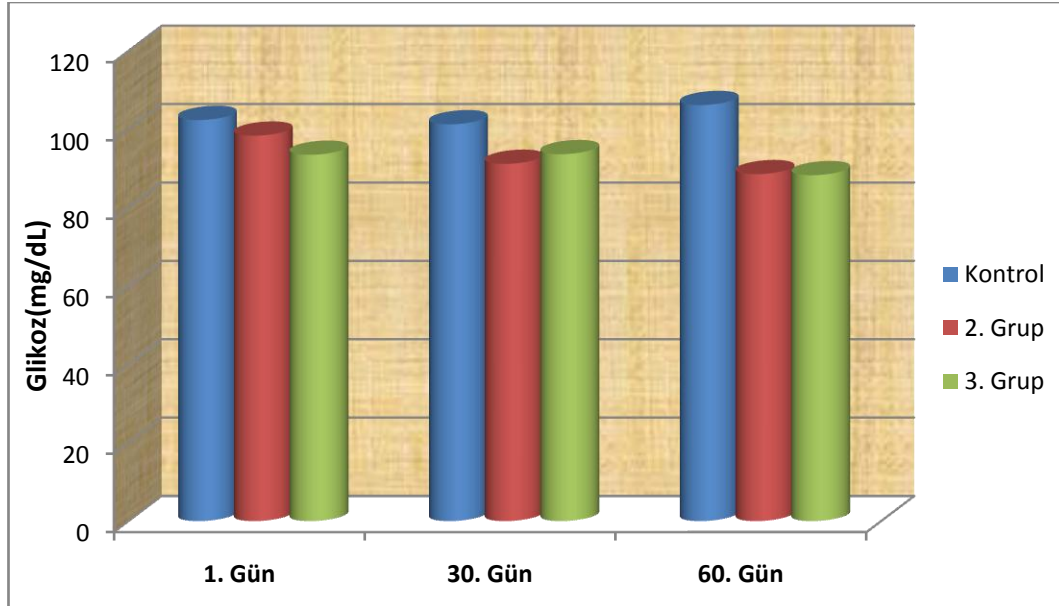


Grafik 3.2. Çalışma gruplarında PC değişimleri

Çizelge 3.3. Çalışma gruplarında glikoz değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
Glikoz (mg/dl)	1.gün	102,37±3,13	98,37±3,57 ^A	93,50±4,22	0,253
	30.gün	101,27±2,81a	91,18±2,04b ^{AB}	93,64±2,65ab	0,0240,00
	60.gün	106,18±2,40a	88,54±2,76b ^B	88,28±2,88b	0
	P ₂	0,403	0,061	0,471	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

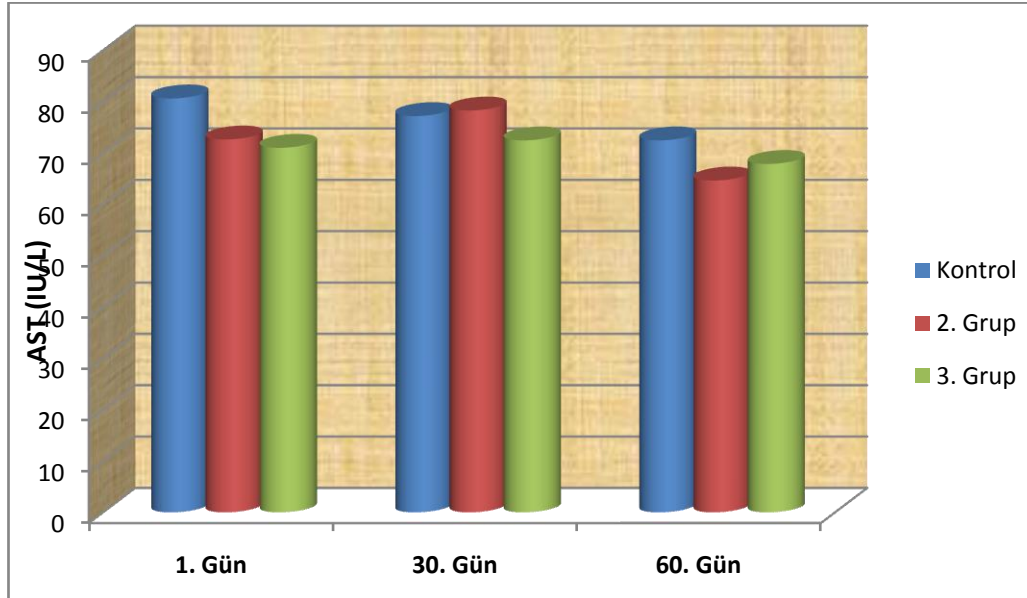


Grafik 3.3. Çalışma gruplarında glikoz değişimleri

Çizelge 3.4. Çalışma gruplarında AST değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
AST (IU/L)	1.gün	80,62±4,50 ^A	72,62±1,87 ^{AB}	71,00±3,35	0,127
	30.gün	77,18±3,21 ^{AB}	78,27±3,79 ^A	72,45±2,64	0,4550,015
	60.gün	72,45±0,97a ^B	64,63±2,08b ^B	67,86±2,79ab	
P ₂		0,181	0,006	0,553	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

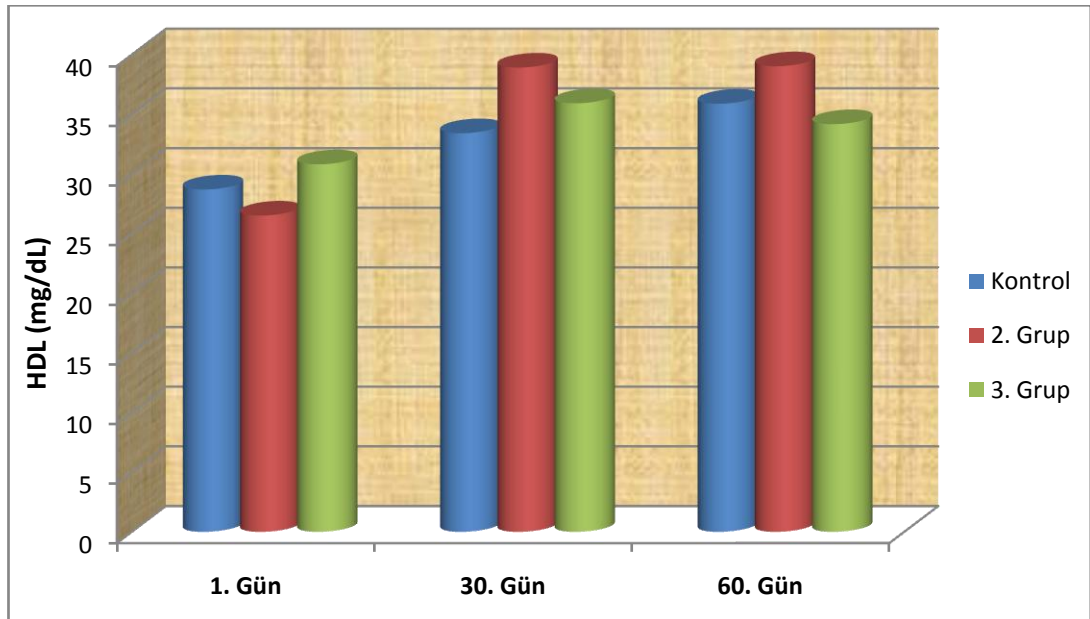


Grafik 3.4. Çalışma gruplarında AST değişimleri

Çizelge 3.5. Çalışma gruplarında HDL değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
HDL (mg/dl)	1.gün	28,69±1,49 ^B	26,51±1,71 ^B	30,80±1,77 ^B	0,215
	30.gün	33,41±1,237b ^A	38,91±0,97a ^A	35,92±1,14ab ^A	0,007
	60.gün	35,88±1,08ab ^A	39,02±1,16a ^A	34,17±1,45b ^{AB}	0,034
	P ₂	0,002	0,000	0,049	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

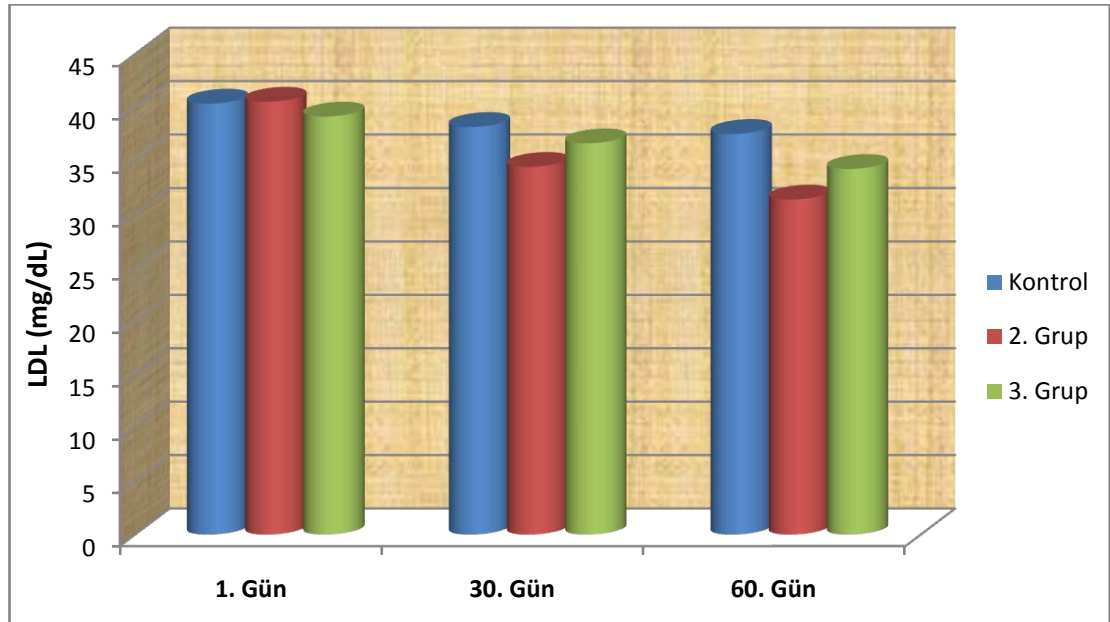


Grafik 3.5. Çalışma gruplarında HDL değişimleri

Çizelge 3.6. Çalışma gruplarında LDL değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
LDL (mg/dl)	1.gün	40,35±1,42	40,53±1,40 ^A	39,14±0,99 ^A	0,714
	30.gün	38,16±0,95a	34,43±1,08b ^B	36,63±1,06ab ^{AB}	0,033
	60.gün	37,51±0,94a	31,37±0,65b ^C	34,23±1,69b ^B	0,000
	P ₂	0,197	0,000	0,049	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

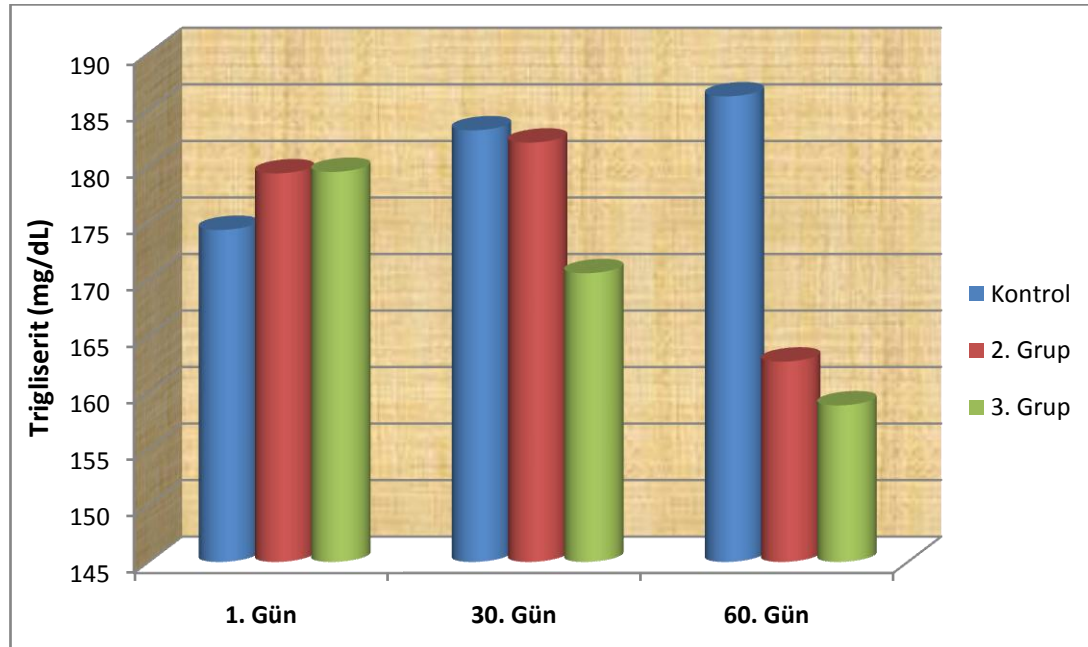


Grafik 3.6. Çalışma gruplarında LDL değişimleri

Çizelge 3.7. Çalışma gruplarında trigliserit değerleri ve istatistiksel değişimleri.

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
Trigliserit (mg/dl)	1.gün	174,37±6,29	179,37±5,99 ^A	179,50±6,20 ^A	0,801
	30.gün	183,18±5,80	182,09±5,08 ^A	170,54±3,65 ^{AB}	0,220
	60.gün	186,18±5,48a	162,72±5,78b ^B	158,85±5,57b ^B	0,003
	P ₂	0,387	0,038	0,040	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

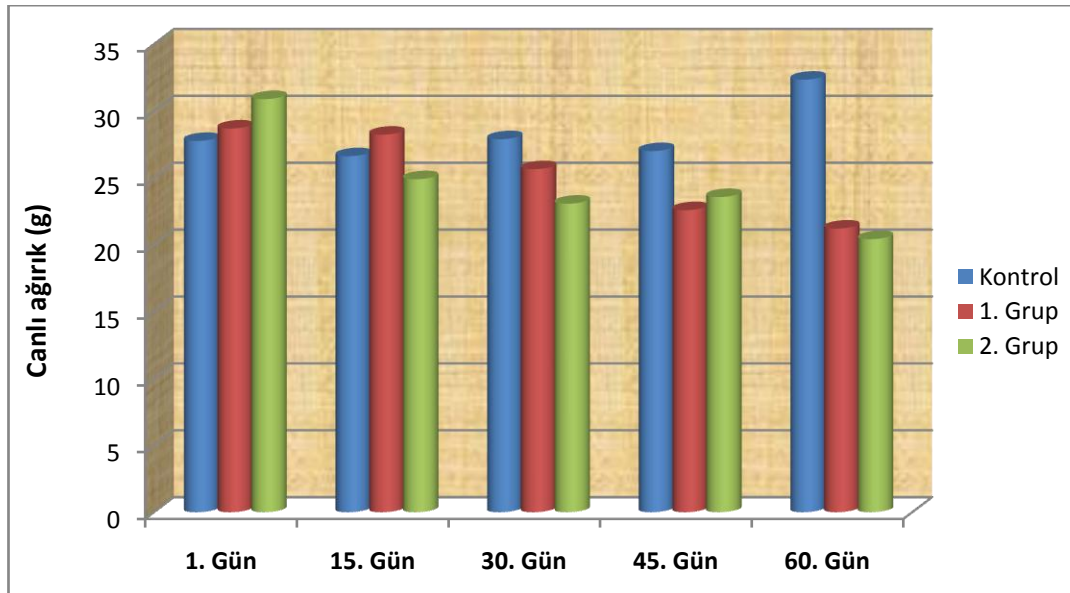


Grafik 3.7. Çalışma gruplarında trigliserit değişimleri

Çizelge 3.8.Çalışmagruplarında canlı ağırlık değerleri ile dönemlere göre değişimleri

Dönem (Gün)	1. grup (Kontrol)	2. grup	3.grup	P ₁
1	27,76±1,22b	28,69±0,84ab ^{AB}	30,89±0,72a ^A	0,061
15	26,62±0,88ab	28,23±0,74a ^A	24,90±1,10b ^B	0,051
30	27,89±0,76a	25,65±0,96a ^B	23,07±0,62b ^{BC}	0,000
45	27,00±1,43a	22,59±0,77b ^C	23,57±1,61ab ^{BC}	0,047
60	32,34± 0,60a	21,21±0,54b ^C	20,42±0,39b ^C	0,000
P₂				
	0,078	0,000	0,000	

P₁ Gruplararası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)



Grafik 3.8. Çalışma gruplarında canlı ağırlık değişimler

4. TARTIŞMA

Negatif ve pozitif enerji dengesi açısından bakıldığında alınan ve harcanan kalorinin mümkün olduğunca dengeli olması arzu edilir. Kalori kısıtlaması ifadesi esasında bu dengenin korunması anlamına gelirken günümüzde çoğu kez günlük çok az kalori alınması ile “açlık” kavramına yakın bir uygulama olarak algılanmakta, lipidlerin ve hatta proteinlerin normal ötesi ve hızlı yıkımı hedeflenerek bir bakıma negatif enerji dengesi oluşturulmaktadır. Ancak normalin dışına taşan beslenme rejimleri, enerji eldesi açısından karbonhidrat-lipit-protein katabolik dengesini olumsuz yönde değiştirerek metabolik, hormonal bozukluklara ve sonuçta kalıcı birtakım hastalıklara neden olurlar. Dengeli uygulandığı taktirde ise özellikle yaşlanma ve yaşlanma süreci ile ilişkili hastalıkların önlenebilmeleri, kaliteli yaşam süresinin uzatılabilmesi açısından kalori kısıtlaması basit, ucuz ve belki de en etkili tedavileri oluşturabilecektir.

Erkek farelerde (Swiss Albino) 60 gün süreli olarak gerçekleştirilen bu tez çalışmasında %40 ve %60 oranlarında yem (kalori) kısıtlamasının kan lipit peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz gibi temel biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık değerlerine etkileri araştırılmıştır.

Sunulan çalışmada LPO ve PC değerleri 2. ve 3. gruplarda 30 ve 60. gün incelemelerinde devamlılık ifade eden düşüş göstermiş ($P<0.001$); kontrol grubunda grup içi ve gruplararası değerlerden anlaşıldığı gibi farklılıkların ortaya çıkmaması; diğer bir ifade ile 2. ve 3. gruplar için elde edilen anlamlı P_1 ve P_2 değerleri kalori kısıtlamasının incelenen bu değerlere etkisinin net olduğunu açıklayabilmektedir.

Lipid profili açısından bakıldığında çalışmada kalori kısıtlamalarının (2. ve 3. gruplar) trigliserit düzeylerinde hem gruplar arasında hem de her grupta kan alım dönemlerinde belirgin düşüşler sağladığı, bu düşüşlerin kontrol grubu ile kıyaslandığında 60. gün değerlerinde belirgin düzeye ulaştığı ($P<0.01$) görülmektedir.

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yönünden incelendiğinde de özellikle % 40 kısıtlama uygulanan 2. grubun en düşük LDL oranlarını gösterdiği, 3. grupta da kontrole oranla ($P<0.001$) düşüş olduğu tespit edilmiştir. Yüksek dansiteli

lipoprotein (HDL) değerlerinde de 2. grup değerleri en belirgin ($P<0.001$) yükselmeyi göstermiştir.

Scrofano ve ark(1998), kontrol ve %50 kalori kısıtlaması uyguladığı 13 haftalık farelerdetotal kolesterol düzeylerini sırası ile 166 ve 78mg/dl olarak tespit etmiş, kontrol grundaki değerlerin kalori kısıtlanmış gruba oranla %71 oranda yüksek olduğugörülürken kontrol grubundaki bu oranındaneme grubuna göre % 23 oranında yüksekolduğu tespit edilmiştir.

Fontana ve ark (2004), kalori kısıtlamasının aterosklerozis insidansına etkileri amacı ile 6 yıl gibi uzun süreli olarak insanlar üzerinde sürdürdüğü çalışmasında, kalori kısıtlanmış deney grubundaki bireylerde vücut kitle indeksi, trigliserit, C reaktif protein (CRP), LDL, açlık kan glikozu, insulin duyarlılığı ve serum lipoprotein değerlerinin, Amerikan diyeti ile beslenen kontrol grubu bireyelerine oranla belirgin ölçüde düşük, HDL düzeylerinin ise bir o kadar yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Kalori kısıtlamasının % 60 oranında uygulanarak farelerde atherosklerozis gelişiminin incelendiği bir diğer çalışmada (Guo ve ark 2002) da kolesterol değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmez iken trigliserit ve LPO değerlerinin diyetleri kısıtlanmış grupta ad libitum beslenenlere oranla düşük olduğu, LPO ve oksidize LDL oranlarındaki düşüklüğün aterosklerozis insidansını da azalttığı sonucuna varılmıştır.

Sunulan tez çalışmasında kan glikoz düzeyi değişimleri kontrol grubunda 60 gün boyunca değişim göstermez iken 2. ve 3.gruplarda kontrol grubuna oranla 30. ve 60. günlerde (P_1) belirgin düşüş göstermiş, özellikle 3. grupta en düşük değerler elde edilmiştir. Grup 2 de ise bu düşüş deneme başı ve deneme sonu periyodu (P_2) dikkate alındığında hem daha anlamlı ($P<0,001$) hemde daha ritmik bir seyir göstermiştir.

Kalori kısıtlamasının özellikle glikoz metabolizması, kan glikoz düzeyleri, diyabet-kalori ilişkisi, glikozile hemoglobin oluşumu, insulin direnci gibi konular ile direk ilişkileri gerek insanlar (Weindruch ve ark 2001,Heilbronn ve Ravussin 2003) gerekse laboratuvar hayvan modelleri ile yürütülen çalışmalarla (Scrofano ve ark 1998, Weindruch ve ark 2001, Hagopian ve ark 2003, Yu 2005) geniş ölçüde ele

alınmış; kalori kısıtlamasının glikoz düzeylerine etkilerinin özellikle ilerleyen yaş periyotlarında belirgin olduğu, yaşlanma ile artan ve özellikle diyabet olgularında belirgin düzeyde oluşan glikolize protein(glikozile hemoglobin gibi) konsantrasyonlarının düzenli ve sürekli uygulanan kısıtlanmış kalori alımları ile azaldığı, doku hasarlarının (katarakt, kılcal damar çatlamları, epitelyum doku bütünlüğü-yara oluşumu) önlenmesi belirtilmiştir. Yüksek kan glikoz konsantrasyonlarında ise non enzimatik olarak ilerleyen bu glikasyon artmakta, proteinlerle çapraz bağlanmalar şekillenmektedir (Weindruch ve ark 2001).

Glikoz değerleri yönünden ise aynı çalışmada (Scrofano ve ark 1998),4.5 ve 13 haftalık yaştaki erkek farelerde düşüşün kontrol grubuna göre yaklaşık %50 oranında gerçekleştiği, 23 haftalıklerde ise belirgin bir düşüş şekillenmediği; dişilerde ise hiçbir yaş grubunda farklılık oluşmadığı belirtilmiştir.

Glikozile hemoglobin düzeylerindeki düşüş,4.5 haftalık yaştakilerde kontrol grubuna göre %50 oranında gerçekleşirken, 13 ve 23 haftalık yaştaki kontrol gruplarının glikozile Hb düzeyleri daha düşük olduğundan kalori kısıtlaması gruplarına oranla fark daha düşük olarak tespit edilmiştir.

Van Liew ve ark(1993) ise erkek farelerde benzer glikoz ve glikozile Hb değerlerinde benzer düşüşe karşın,(Scrofano ve ark1998) a benzer şekilde dişilerde herhangi bir azalma şekillenmediğini bildirmişlerdir.

Kalori kısıtlamasının metabolik ve klinik yansımaları esasında mitokondrial elektron sızıntılarının değişimi ile şekillenmektedir. Özellikle azalan oksidatif reaksiyon zincirleri ve serbest radikal üretimi, antioksidan savunma artışı, mitokondrial elektron sızıntılarının sınırlanması, biyomoleküler oksidasyonları da kısıtlar.

Guo ve ark (2002),%60 kalori kısıtlaması uyguladıkları fare modellerinde LDL oksidasyonu, aortta atherosklerotik plak oluşumu, süperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂) üretimi ile trigliserit ve LPO değerlerini araştırmışlar, kalorileri kısıtlanmış grupta incelenen tüm değerlerde kontrol grubuna oranla belirgin ve anlamlı düşüşler tespit etmişler; HDL değerlerinin ise kontrol gruplarından daha yüksek olduğu sonucunu elde etmişlerdir.

Xia ve ark (1994) da, %40 kalori kısıtlaması uygulanmış olan rat modellerinin karaciğer, beyin korteksi, kalp ve böbrek dokularında LPO değerlerinin düşüş, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin ise beklendiği gibi artış gösterdiğini belirtmişler; barsak dokusunda ise belirtilen parametrelerde gruplararası farkın oluşmadığını tespit etmişlerdir.

Kalori kısıtlama uygulamaları ile yürütülen çalışmalarda antioksidan enzim aktivitelerindeki artış kalori kısıtlamasının hücre zarı yıkımını önlemesi, gen ekspresyonunu düzenlemesi, DNA zincir mutasyonlarını ve oksidasyonlarını dolayısı ile protein sentezinin düzenlenmesi mekanizmalarına dayandırılmıştır (Weindruch 2001, Merry 2002, Hagopian 2005).

Benzer şekilde farklı haftalık yaştaki (4, 10, 22 ve 26) fare modelleri ile %40 kalori kısıtlaması uygulanarak yürütülen çalışma (Rebrin ve ark 2003) sonuçları, glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) değerlerinin kalori kısıtlaması yapılan gruplardaki değişiklik gösterdiğini; özellikle okside glutasyon değerlerinin düştüğünü ve antioksidan savunmanın kısıtlanmış kalori uygulamaları ile desteklendiğini ortaya koymuştur.

Yapılan bir diğer çalışmada (Hagopian 2005), 3-15 yıl süreyle 18 gönüllü denekte kalori kısıtlaması uygulanmış, kalori kısıtlaması süresince alınan besin miktarı kontrol grubunda 1976-3537 kcal/gün, diğer grupta ise 1112-1958 kcal/gün olarak uygulanmıştır.

Deney uygulanan grupta biyokimyasal parametreler incelenmiş; kan basıncı, LDL, total kolesterol, insülin, glukoz, trigliserid seviyeleri azalmıştır.

Bunun yanında ateroskleroz belirteci olan CRP'nin seviyesindeki düşüş kalori kısıtlamasının ateroskleroz riskini azalttığı fikrini desteklemiştir.

Canlı ağırlık değerleri sunulan çalışmada kalori kısıtlamalarının etkilerini yansıtmış, kontrol grubunda deneme başlangıcında ortalama 28 g olan canlı ağırlık değeri, 60 gün sonunda her ne kadar farklılık oluşturmada da ($P > 0.05$), farelerin yaş ve hormonal olarak gelişim göstermelerine bağlı olduğu düşünülen kısmi artışlar göstererek 32 g ortalama değerine (% 14) ulaşmıştır.

Deneme gruplarında da 60 günlük süre sonunda belirgin ($P<0.001$) canlı ağırlık düşüşleri şekillenmiştir. Grup 2 de % 40 oranında uygulanan kalori kısıtlaması ile canlı ağırlık ortalamalarında % 25, grup 3 te ise % 33 lere kadar varan canlı ağırlık kaybı gözlenmiş; özellikle 3. gruptaki farelerin ileri kilo kaybına rağmen metabolik olarak büyük adaptasyon gösterdikleri, yaşamsal tehdit oluşturacak genel durum bozuklukları göstermedikleri tespit edilmiştir. Ancak metabolik düzen açısından daha çok % 40 kalori kısıtlamasının yaşamsal ve metabolik standartlarda bir profil sergilediği dikkat çekmiştir.

Yılmaz (2007), ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada normal ve obez ratlara besin kısıtlaması uygulamıştır. Başlangıçta ortalama 250 g ağırlığında olan normal ratlar ve ortalama 400 g ağırlığında olan obez ratları% 60 oranında azaltılmış diyet ile 10 hafta boyunca beslemiş; hem obez hem de normal grupta çalışma sonucunda anlamlı ($p<0.05$) kilo kaybı olduğunu bildirmiş ve her iki gruptaki ratlarda ortalama % 20 oranında kilo kaybı şekillenmiştir.

Luvizotto ve ark (2010), % 25 oranında kalorik kısıtlama uyguladıkları ratlarda ise 23 haftalık deneme süresi sonunda % 13 oranında canlı ağırlık azalması belirlemişler ancak yaptıkları karkas incelemeleri sonucunda protein ve yağ yüzdelere göre kalori kısıtlaması grubunun en az yağ yüzdesine (% 8,5) sahip olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada kontrol grubundaki yağ yüzdesi ise % 14 olarak tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Swiss Albino erkek farelerde 60 gün süreli olarak % 40 ve % 60 oranların uygulanan kalori kısıtlamasının LP, PC, trigliserit, LDL ve HDL kolesterol ve glikoz düzeyleri ile canlı ağırlık değerlerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada incelenen tüm biyokimyasal parametrelerde her iki kalori kısıtlama uygulamasının düzenleyici etkiler oluşturduğu ve literatür verileri ile uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle kalori kısıtlamasının lipid ve protein molekülleri üzerindeki oksidatif yıkım düzeylerini ifade eden LP ve PC değerlerinde belirgin düşüşler oluşturması dikkat çekicidir.

Elde edilen verilerden hareketle, kalori kısıtlamasının sürekli ve bir beslenme alışkanlığı halinde uygulanmasının yaşamsal parametrelerde ve biyokimyasal

mekanizmalarda etkili olduğu, yaşlanma s¼recini geciktirebileceği, belirgin bazı hastalıklara yakalanma insidansını azaltabileceği s¼ylenbilir.

Literat¼r bildirişlerine g¼re kalori kısıtlamasının farklı yaş ve cinsiyetlerdeki etkilerinin aynı olamayacağı g¼r¼řlerinden hareketle laboratuvar hayvan modelleri ile daha uzun s¼reli ve farklı yaş ve cinsiyet grupları ile oluşturalacak çalışmaların konuya daha geniş katkılar sağlayacağı da açıktır.

6. ÖZET

T.C.

S.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KALORİ KISITLAMASI UYGULANAN FARELERDE BİYOKİMYASAL DEĞERLER

Özge ÇAKICI

Biyokimya (Vet.) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ /KONYA 2014

Erkek farelerde (Swiss Albino) 60 gün süreli olarak gerçekleştirilen bu tez çalışmasında %40 ve %60 oranlarında yem (kalori) kısıtlamasının kan lipit peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz gibi temel biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık değerlerine olası etkileri araştırılmıştır.

Araştırmada hayvan materyali olarak, 96 adet 6-8 aylık yaşta Swiss Albino erkek fare kullanılmış; deneme başlangıcında hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları homojen veher kafeste 8 adet fare olacak şekilde aşağıda belirtilen 3 ayrı grup halinde barındırılmışlardır. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma Ünitesinde 60 gün süreli yürütülmüştür.

1.Kontrol, 2. Kalori kısıtlanmış (%40) grup, 3. Kalori kısıtlanmış (% 60) grup.

Denemede 10 günlük adaptasyon döneminden sonra deneme başında (1.gün) kalp içinden kan alınmış, aynı uygulamalar 30 ve 60. günlerde tekrarlanmıştır. Elde edilen plazmalarda lipit peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz değerleri ile 15 er gün aralıklarla yapılan tartımlarla canlı ağırlık değişimleri belirlenmiştir.

LPO ve PC değerleri 2. ve 3. gruplarda 30 ve 60. gün incelemelerinde devamlılık ifade eden düşüş göstermiş ($P<0.001$); kontrol grubunda ise farklılık ortaya çıkmamıştır.

Lipid profili açısından bakıldığında çalışmada kalori kısıtlamalarının (2. ve 3. gruplar) trigliserit düzeylerinde hem gruplar arasında hem de her grupta kan alım dönemlerinde belirgin düşüşler sağladığı, bu düşüşlerin kontrol grubu ile kıyaslandığında 60. gün değerlerinde belirgin düzeye ulaştığı ($P<0.01$) görülmektedir. Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yönünden incelendiğinde de özellikle % 40 kısıtlama uygulanan 2. grubun en düşük LDL ve en yüksek HDLoranlarını gösterdiği tespit edilmiştir.

Kan glikoz düzeyi değişimleri kontrol grubunda 60 gün boyunca değişim göstermez iken 2. ve 3. gruplarda kontrol grubuna oranla 30. ve 60. günlerde (P1) belirgin düşüş göstermiş, özellikle 3. grupta en düşük değerler elde edilmiştir.

Canlı ağırlık değerleri sunulan çalışmada kalori kısıtlamalarının etkilerini yansıtmıştır.

Elde edilen verilerden hareketle, kalori kısıtlamasının sürekli ve bir beslenme alışkanlığı halinde uygulanmasının yaşamsal parametrelerde ve biyokimyasal mekanizmalarda etkili olduğu, yaşlanma sürecini geciktirebileceği, belirgin bazı hastalıklara yakalanma insidansını azaltabileceği söylenebilir.

Farklı yaş ve cinsiyet gibi faktörlerin etkilerinin ortaya konulması açısından laboratuvar hayvan modelleri ile daha uzun süreli ve farklı yaş ve cinsiyet grupları ile oluşturulacak çalışmaların konuya daha geniş katkılar sağlayacağı da açıktır.

Anahtar Kelimeler:Kalori kısıtlaması, fare, biyokimyasal değerler.

7. SUMMARY

BIOCHEMICAL VALUES OF MALE MICE FED DIET RESTRICTED

In this study, the effects of calorie restriction by 40 % and 60 % during 60 days on basic biochemical parameters such as blood lipid peroxidation (LPO), protein carbonyl (PC), HDL and LDL cholesterol, triglycerides (TG), aspartate amino transferase (AST), glucose and body weight of male mice (Swiss Albino) were investigated.

As animal material, 96 Swiss Albino male mice that have 6-8 months of age and body weight close to by each other were used in the study. Before starting the experiment, all animals were weighed and distributed in groups according to homogeneity for their body weight. The research lasted for 60 days and conducted at Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine Experimental Animal Research Unit.

Mice were divided into 3 groups in each subgroup be of 8 mice and were fed in standard mice cages. These groups organized as follows;

1-Control; 2- Calorie restricted (40%); 3- Calorie restricted (60%). After the adaptation period of 10 days, at the beginning; 30; and 60 days blood samples were taken by cardiac puncture, plasma were acquired; LPO, PC, triglyceride, glucose, HDL-LDL cholesterol, AST levels in the were determined. Live weight values also determined by weighing at 15 day intervals.

LPO and PC values of 2nd and 3rd showed continuity declines ($P < 0.001$) but such differences have not been shown in the control group as can be seen both P_1 and P_2 values.

As lipid profile from the perspective of study; calorie restrictions (2nd and 3rd groups) decreased the triglyceride levels especially at 60. day both between groups as well as in each group among the periods of blood intake. The lowest low density lipoprotein (LDL) and highest high density lipoprotein (HDL) levels were obtained from 40% calorie restricted groups.

While the plasma glucose levels were not change for 60 days in the control group; these levels reached at lowest in groups 2 and group 3 especially, at 30 and 60 days (P_1). Live weight values in the present study the effects of calorie restriction has reflected. Obtained from data, it can be said that, calorie restriction practices applied as nutritional habits regularly may be effective on the vital parameters and biochemical mechanisms and can delay the aging process, significantly reduce the incidence of some diseases of live organisms.

For verifying the effects of different factors such as age and gender, studies created by using laboratory animal models with different age and sex for a longer time will contribute to this subject.

Key Words: Calorie restriction, mice, biochemical paramet

8. KAYNAKLAR

1. Agarwal S, Sharma S, Agarwal V, Roy N. Caloric restriction augments ROS defence in *S. Cerevisiae*, by a Sir2p independent mechanism. *Free.Radic.Res.* 2005; 39: 55-62
2. Akman C, Zhao Q, Liu X, Holmes GL. Effect of food deprivation during early development on cognition and neurogenesis in therat. *Epilepsy & Behavior* 2004; 5: 446–454.
3. Alvers AL, Fishwick LK, Wood MS, Hu D, Chung HS, Dunn Jr WA, Aris JP. Autophagy and amino acid homeostasis are required for chronological longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Aging Cell* 2009; 8:353–369.
4. Aruoma OI. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidant. *Food Chem Toxic.* 1994; 32:7 671-683.
5. Başpınar N, Kurtuğlu F. Vitaminler. ISBN 975-448-168-7. S.Ü. Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya. 2003.
6. Brookes PS, Land JM, Clark JB, Heales SJR. Peroxynitrite and brain mitochondria: evidence for increased proton leak. *J Neurochem.* 1998;70:2195–2202.
7. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care.* 1992;15: 1835.
8. Cao SX, Dhahbi JM, Mote PL, Spindler SR. Genimic profiling of short and long term calorie restriction effects in the liver of aging mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98:10630-10635
9. Cartee GD, Dean DJ. Glucose transport with brief dietary restriction. Heterogenous responses in muscles. *Am J Physiol.* 1994;266:E946–E952.
10. Chacon F, Cano P, Jimenez V, Cardinali DP, Marcos A, Esquifino AI. 24-hour changes in circulating prolactin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and testosterone in young male rat subjected to calorie restriction. *Chronobiol. Int.* 2004; 21: 393–404.
11. Chaney SG, Principles of Nutrition I-II. In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 997; p. 1087-1137
12. Choi JH, Yu BP. Brain synaptosomal ageing: free radicals and membrane fluidity. *Free Radic. Biol.Med.* 1995; 18:133-139.
13. Coomes MW. In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 1997. p. 445-456.
14. Cunha FM, Demasi M, Kowaltowski AJ. Aging and calorie restriction modulate yeast redoxstate, oxidized protein removal, and the ubiquitin–proteasome system. *Free Radical Biology&Medicine.* 2011; 51: 664-670.
15. Cutler RG, Davis BJ, Ingram DK, Roth GS. Plasma concentrations of glucose, insulin and percent glycosylated hemoglobin are unaltered by food restriction in rhesus and squirrel monkeys. *J Gerontol Biol Sci.* 1992;47:B9–B12.
16. Dixit R, Coleman JB, Mattson B, Balam GC, Kenan KP, Louis MO. The effects of uncontrolled excess caloric intake and moderate to marked caloric restriction (CR) on obesity, spontaneous disease and cancers in sprague dowley (sd) rats. *Neurology* 2006; 67: 1208-1214
17. Drew B, Phaneuf S, Dirks A, Selman C, Gredilla R, Lezza A, Barja G, Leeuwenburgh C. Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *Am. J. Physiol.* 2003;284: R474-R480
18. Fabrizio P, Gattazzo C, Battistella L, Wei C, Cheng M, Mc Grew K, Longo VD. Sir2 blocks extreme life span extension. *Cell.*2005;23:655–667.
19. Fernandes G. Dietary lipids and risk of autoimmune disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 1994;72:193–197.
20. Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO. Long-term calori restriction is highly effective in reducing the risk for in atherosclerosis humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; 101: 659–6663.
21. Forster MJ, Lal H. Estimating age-related changes in psychomotor function: influence of practice and of level of caloric intake in different genotypes. *Neurobiol Aging.* 1999; 20:167-76.
22. Goldberg AA, Bourque SD, Kyryakov P, Gregg C, Boukh-Viner T, Beach A, Burstein MT, Machkalyan G, Richard V, Rampersad S, Cyr D, Milijevic S, Titorenko V, I. Effect of calorie restriction on the metabolic history of chronologically aging yeast. *Exp. Gerontol.* 2009; 44:555–571
23. Guo Z, Raymundo FM, Yang H, Ikeno Y, Nelson J, Diaz V, Richardson A, Reddick R. Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient mice. *Mechanisms of Ageingand Development.* 2002; 123: 1121-1131.



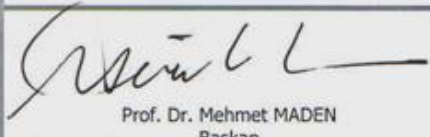
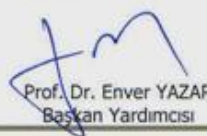
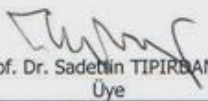




24. Guthrow CE, Morris MA, Day JF, Thorpe SR, Baynes JW. Enhanced nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci.* 1979; 76:4258–4261..
25. Gutteridge JMC and Halliwell B. Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids In: G Schott Editor. *Atmospheric Oxidation and Antioxidants* Amsterdam.1993, 71-95,
26. Hagen TM, Yowe DL, Bartholomew JC. Mitochondrial decay in hepatocytes from old rats: membrane potential declines, heterogeneity and oxidants increase. *Proc Natl Acad Sci.* 1997; 94:3064-3069.
27. Hagopian K, Ramsey JJ, Weindruch R. Caloric restriction increases gluconeogenic and transaminase enzyme activities in mouse liver. *Experimentl. Gerontol.* 2003; 38: 267-278.
28. Hagopian K, Ramsey JJ, Weindruch R. Fructose metabolizing enzymes from Mouse liver: influence of age and caloric restriction. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2005; 1721: 37- 43.
29. Hagopian K. Krebs cycle enzymes from livers of old mice are differentially regulated by caloric restriction. *Physiol and Behavior.* 2005;85: 581-592.
30. Harris RA, Crabb DW. *Metabolic Interrelationships* In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 1997. p.525-547.
31. Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Ann. J.Clin. Nutr.* 2003; 78: 361-369.
32. Hopfer U. *Digestion and Absorption of Basic Nutritional Constituents*In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 1997. p. 1056-1083
33. Ingram DK, Weindruch R, Spangler EL, Freeman JR, Walford RL. Dietary restriction benefits learning and motor performance of aged mice. *J. Gerontol.* 1987;42: 78–81.
34. Kargin F, Fidancı UR. Serbest oksijen radikaller ve oksidatif hasar, *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi.* 2000; 26-28.
35. Kim JD, McCarter RJM, Yu BP. Influence of age, exercise and dietary restriction on oxidative stress in rats. *Ageing. Clin.Exp.Res.* 1996; 8: 123-129.
36. Lane MA, Ball SS, Ingram DK, Tilmont EM, Cutler RG, and Roth GS. Diet restriction in rhesus monkeys lowers fasting and glucose-stimulated glucoregulatory end points. *Am J Physiol.* 1995; 268:E941–E948.
37. Lane MA, Black A, Hand YA, Tilmont EM, Ingram DK, Roth GS. Caloric restriction in primates, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2001; 928:287–295.
38. Lee AT, Cerami A. Role of glycation in aging. *Ann NY Acad Sci.*1992; 663:63–70.
39. Lee J, Yu BP, Herlihy JT. Modulation of cardiac mitochondrial membrane fluidity by age and calorie intake. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26:260–265.
40. Lee, CK, Allison, DB, Brand J, Weindruch R, Prolla TA, Transcriptional profiles associated with aging and middle age-onset caloric restriction in mouse hearts. *Proc. Natl. Acad. Sci.*2002;99: 14988–14993.
41. Lewis SEM, Goldspink DF, Phillips JG, Merry BJ, Holehan AM. The effects of aging and chronic dietary restriction on whole body growth and protein turnover in the rat. *Exp. Gerontol.* 1985; 20:253-263.
42. Longo VD, Fontana L. Calorie restriction and cancer prevention: metabolic and molecular mechanisms. *Trends in Pharmacol Sci.* 2009; 2: 31.
43. Luvizotto AM, Sandro JC, Sibio MT, Nascimento AF, Lima-Leopoldo AS, Padovani CR, Cicogna AC, Nogueira CR. Administration of physiologic levels of triiodothyronine increases leptin expression in calorie-restricted obese rats, but does not influence weight loss. *Met.Clin.and Exp.* 2010;59:1-6.
44. Lyons TJ. Glycation and oxidation; a role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 1993; 71: 26B.
45. Maalouf M, Rho JM, Mattson MP. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet and ketone bodies. *Brain. Res. Rev.* 2009;59:293-315.
46. Markovic TP, Jenkins AB, Campbell LV, Furler SM, Kraegen EW, Chisholm DJ. The determinants of glycemic responses to diet restriction and weight loss in obesity and NIDDM. *Diabetes Care.* 1998;21:687–694.
47. Masoro EJ, Katz MS, McMahan CA. Evidence for the glycation theory of aging from the food-restricted rodent model. *J Gerontol Biol Sci.* 1989; 44:B20–B22.
48. McVerry BA, Fisher C, Hopp A, Huehns ER. Production of pseudodiabetic renal glomerular changes in mice after repeated injections of glycosylated proteins. *Lancet.* 1980;738–740.

49. Merry BJ. Dietary restriction in rodents- delayed or retarded ageing? *Mech. Aging and Dev.* 2005;126:951-959
50. Merry BJ. Molecular mechanism linking calorie restriction and longevity. *The Int J of Biochem and Cell Biol.* 2002; 34: 1340–1354.
51. Niki E. Lipid peroxidation and its inhibition In: Scott G Editor, *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Amsterdam.p. 1993:1-26,
52. Oliveira GA, Tahara EB, Gombert AK, Barros MH, Kowaltowski AJ. Increased aerobic metabolism is essential for the beneficial effects of caloric restriction on yeast life span. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2008; 40:381–388.
53. Öz N, Kurtoğlu F. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler ve hastalıklarla ilişkileri. *J. of Konya Vet. Cont and Res Inst.*2002;13:1 21-31.
54. Pitsikas N, Carli M, Fidecka S, Algeri S. Effect of life-long hypocaloric diet on age-related changes in motor and cognitive behavior in a rat population. *Neurobiol. Aging* 1990;11: 417–423.
55. Poyraz Ö. () “Laboratuvar Hayvanları Bilimi.” Kardelen Ofset Matbaacılık Tanıtım San. Tic. Ltd. Şti. 2000 Ankara.
56. Pryor WA, Porter NA. Suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2- nonenal, from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Free Rad Biol Med.* 1990; 8: 541-543.
57. Rebrin I, Kamzalov S, Sohal RS. Effects of age and caloric restriction on glutathione redoxstate in mice. *Free Rad. Biol.Med.* 2003; 6: 626–635.
58. Redman LM, Ravussin E. Endocrine alterations in response to calorie restriction in humans. *Molecular and Cell. Endocrinol.* 2009;299:129-136.
59. Reiser K, Mcgee C, Rucker R, McDonald R. Effect of aging and caloric restriction on extracellular-matrix biosynthesis in a model of injury repair in rats. *J.of Geront. Series A-Biol. Sci.and Med. Sci.* 1995;50:B40-B47.
60. Rolfe DFS, Brown GC. Cellular energy utilization and molekuler origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol. Rev.* 1997; 77: 731-758.
61. Schwartz NB In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 1997. p. 335-352
62. Scrofano MM, Hodge JJ, Nowell TR, Gong X, Smith DE, Perrone G, Asmundsson G, Dallal G, Gindlesky B, Mura CV, Taylor A. The effects of aging and calorie restriction on plasma nutrient levels in male and female Emory mice. *Mech of Aging and Develop.* 1998; 105: 31–44.
63. Selman C, Phillips T, Staib JL, Duncan JS, Leeuwenburgh, Speakman JR. Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition. *Mech. Ageing Dev.* 2005;126: 783–793.
64. Sharma PK, Agrawal V, Roy N. Mitochondria-mediated hormetic response in life span extension of calorie-restricted *Saccharomyces cerevisiae*. *Age.* 2011;33:143–154.
65. Smith MA, Taneda S, Richey PL. Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:5710-5714.
66. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science.* 1996; 273: 59–63.
67. Speakman JR, Mitchell SE. Caloric restriction. *Molec. Aspects of Med.* 2011; 32: 159–221
68. Spindler SR. Caloric restriction enhances the expression of key metabolic enzymes associated with protein renewal during aging. *Acad. Sci.* 2001; 928:296-304.
69. Sprott RL. Diet and calorie restriction. *Experimental Gerontology.* 1997;32: 205-214.
70. SPSS for Windows version 21 SPSS Inc. (Statistical Package for the Social Sciences. Chicago, IL, United States). 2012.
71. Stein O, Dabach Y, Halperin G, Naim MB, Stein Y. Calorie restriction in mice does not affect LDL reverse cholesterol transport in vivo. *Biochem and Biophysic. Res. Com.*2003; 308: 29–34.
72. Stewart J, Mitchell J, Kalant N. The effects of life-long food restriction on spatial memory in young and aged Fischer 344 rats measured in the eight-arm radial and the Morris water mazes. *Neurobiol Aging* 1989;10: 669–675.
73. Troyer DA, Venkatraman JT, Fernandes G. Effects of calorie restriction and ω -3 dietary fat on aging in short- and long-lived rodents. *Age.* 1998; 21:175–182.
74. Van Liew JB, Davis PJ, Davis FB, Bernardis LL, Deziel MR, Marinucci LN, Kumar D. Effects of aging, diet, and sex on plasma glucose, fructosamine, and lipid concentrations in barrier-raised Fischer 344 rats. *J. Gerontol. Biol. Sci.* 1993;48: B184-B190.

75. Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, Fuh H, Li YM, Steffes M. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:11704–11708.
76. Weindruch R, Keenan KP, Carney JM, Fernandes G, Feuers RJ, Halter JB, Ramsey JJ, Richardson A, ROTH GS, Spindler SR. Caloric Restriction Mimetics: Metabolic Interventions. *J of Gerontol. SERIES A*. 2001; 56: 20–33.
77. Weindruch R, Sohal RS. Caloric intake and aging. *The New England J of Med*. 1997; 337: 986–994
78. Wickens AP. Ageing and the free radical theory. *Resp. Physiol*. 2001; 128: 379–391.
79. Xia E, Rao G, Van Remmen H. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr*. 1994; 125: 195-201.
80. Yang MH, Schaich KM. Factors affecting DNA damage caused by lipid hydroperoxides and aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 225-236.
81. Yılmaz N. Ratlarda Kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subünit konsantrasyonları üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya ABD 2007; 21-22.
82. Yu BP, Suescun EA, Yang SY. Effect of age related lipid peroxidation on membrane fluidity and phospholipase A2 modulation by dietary restriction. *Mech. Ageing. Dev.*1992; 65: 17-33.
83. Yu BP. Membrane alteration as a basis of aging and the protective effects of calorie restriction. *Mech of Aging and Development*. 2005; 126: 1003-1010.
84. Ziyadeh FN, Cohen MP. Effects of glycated albumin on mesangial cells: evidence for a role in diabetic nephropathy. *Mol Cell Biochem.*1993; 125:19–25.

9.EKLER

EK. A. Etik Kurul Rapor

Toplantı Tarihi	26.01.2011	Toplantı Sayısı	2011/02	Karar Sayısı	2011/008
<p style="text-align: center;"> T.C. SELÇUK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI </p> <p>Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU tarafından sunulan "Kalori Kısıtlaması Uygulanan Farelerde Biyokimyasal Değerler" isimli tez projesi değerlendirilmiştir.</p> <p>Projede, S.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 96 adet erkek fare kullanılacağı, farelerin farklı düzeylerde 45 gün besleneceği, çalışmanın başında ve sonunda olmak üzere iki kere kalpten kan alınacağı, çalışma sonunda ötenazi uygulanacağı bildirilmektedir.</p> <p>Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun olduğuna" oy birliği ile karar verilmiştir.</p>					
 Prof. Dr. Mehmet MADEN Başkan		 Prof. Dr. Enver YAZAR Başkan Yardımcısı			
 Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ Üye		 Gürkan HIZLI Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi			
 Prof. Dr. Fatma İNAL Raportör Üye	 Doç. Dr. Uğur USLU Üye	 Hüseyin AYDIN Sivil Üye			

10. ÖZGEÇMİŞ

Nevşehir Ürgüp 1986 yılı doğumludur. İlk ve orta eğitimini 1993-2001 yılları arasında Ürgüp Ali Baran Numanoğlu İlköğretim Okulu'nda; 2000-2004 yılları arasında ise Nevşehir Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi Yüksekokulu Öğretmenlik bölümünden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Bu eğitim ile bir arada sürdürdüğü Mustafapaşa İlköğretim Okulu Beden Eğitimi Öğretmenliği görevinden 2011 yılında istifa ederek Garanti Bankası Nevşehir Şubesinde bireysel müşteri temsilciliği görevine başladı. Halen aynı görevine devam etmektedir.