



**YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİNİN SIÇANLARIN TESTİS DOKUSUNDA
İNSÜLİN SİNYAL YOLAĞI, İNFLAMASYON VE APOPTOZİS ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Onur Gökhan YILDIRIM

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOLOJİ (ECZ) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2021

Onur Gökhan YILDIRIM tarafından hazırlanan “ Yüksek Fruktoz Diyetinin Sıçanların Testis Dokusunda İnsülin Sinyal Yolağı, İnflamasyon ve Apoptozis Üzerine Etkisinin İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Farmakoloji (Ecz) Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

.....

.....

.....

.....

.....

Tez Savunma Tarihi: 31/08/2021

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİNİN SIÇANLARIN TESTİS DOKUSUNDA İNSÜLİN SİNYAL
YOLAĞI, İNFLAMASYON VE APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Onur Gökhan YILDIRIM

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞUSTOS 2021

ÖZET

Fruktoz tüketimi kaynaklı metabolik sendromun çeşitli dokularda insülin direnci oluşturmalarının yanı sıra inflamatuvar ve apoptotik yolakları tetikleyerek doku hasarına neden olduğu bilinmektedir. Çalışmalarda, infertil erkeklerde insülin direnci ile testosteron düzeyi düşüklüğü arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak, fruktoz tüketiminin erkek reproduktif sistem üzerine etkilerini gösteren çalışmalar sınırlıdır. Yüksek fruktoz diyeti kaynaklı metabolik sendromda, inflamasyon ve apoptozis ilişkisi yeterince araştırılmamış ve fruktoz tüketiminin Kan-Testis bariyeri ve insülin sinyal yolağı üzerine etkisi bilinmediği saptanmıştır. Bu amaçla, 15 hafta süresince erkek Wistar sıçanlara içme suyu içinde fruktoz (%20) verilerek metabolik sendrom modeli oluşturulmuştur. Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyetinin testis dokusunda inflamasyon, apoptozis, Kan-Testis Bariyer proteinleri, insülin sinyal yolağı molekülleri ile histolojik parametreler üzerine etkisi uygun yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Fruktoz tüketiminin, sıçan plazma glukoz, trigliserit ve insülin düzeylerini artırdığı, testis dokusunda serbest ve total testosteron düzeylerini azalttığı saptanmıştır. İnflamatuvar moleküllerden olan TNF α ve IL-1 β düzeylerinin fruktoz tüketen sıçanların testis dokusunda yükseldiği bulunmuştur. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin insülin sinyal yolağında yer alan IRS-1, IRS-2, PI3K ve mTOR moleküllerinin mRNA ve protein ekspresyonlarını azalttığı saptanmıştır. İlâveten, IR, p-Akt, eNOS, p-eNOS ve SIRT1 protein düzeyleri ile p-Akt/Akt ve p-eNOS/eNOS oranının da azaldığı bulunmuştur. Kan-Testis Bariyerinde yer alan claudin11 ve N-cadherin protein düzeylerinin de fruktoz diyeti sonucu azaldığı belirlenmiştir. Fruktoz tüketiminin anti-apoptotik Bcl-2 mRNA ve protein düzeyini baskıladığı da saptanmıştır. İmmunohistokimyasal çalışmalarda yüksek fruktoz tüketiminin spermatogonia p53 ve caspase8 düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, Hematoksilen-Eozin boyama ile yüksek fruktozla beslenen hayvanlarda testiküler dejenerasyon olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, yüksek fruktoz tüketimine bağlı olarak testis dokusunda inflamasyonun ve apoptozisin tetiklendiği; Kan-Testis Bariyeri ve insülin sinyal yolağı proteinlerinin baskılandığı görülmektedir. Bulgularımız, yüksek fruktoz tüketiminin testosteron düzeylerinin azalması ve Kan-Testis Bariyer bütünlüğünün bozulmasına bağlı infertiliteye yol açabileceği düşündürmektedir. Bu tez çalışmasında, fruktoz tüketiminin testiküler inflamatuvar, apoptozis ve insülin sinyal yolağı üzerine etkileri ilk kez aydınlatılmıştır.

Bilim Kodu : 10103.03
Anahtar Kelimeler : Fruktoz, testis, insülin sinyal yolağı, inflamasyon, apoptozis
Sayfa Adedi : 172
Danışman : Prof. Dr. Fatma AKAR

INVESTIGATION OF EFFECT OF DIETARY HIGH-FRUCTOSE ON INSULIN
SIGNALING PATHWAY, INFLAMMATION AND APOPTOSIS IN TESTIS OF RATS
(Ph. D. Thesis)

Onur Gökhan YILDIRIM

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
August 2021

ABSTRACT

Fructose consumption-induced metabolic syndrome leads to insulin resistance in various tissues as well as causing tissue damage due to triggering inflammatory and apoptotic pathways. Studies showed that there was a relationship between insulin resistance and low testosterone levels in infertile men. However, effect of high-fructose consumption on the male reproductive system has been insufficiently documented. The relationship between inflammation and apoptosis has not been sufficiently investigated in high fructose diet-induced metabolic syndrome as well as Blood-Testis Barrier proteins and insulin signaling pathway. Therefore, a metabolic syndrome model was produced by giving fructose to the rats as 20% solution in drinking water for 15 weeks. In this thesis, the effects of high-fructose diet on metabolic parameters, testicular inflammatory, apoptotic factors, insulin signaling pathway, Blood-Testis Barrier proteins and histological changes were investigated by using suitable methods. Fructose consumption increased rat plasma glucose, triglyceride and insulin levels, whereas free and total testosterone levels were significantly reduced in testicular tissue of the rats. Inflammatory molecules such as TNF α and IL-1 β levels were increased in testicular tissue of fructose-treated rats. This dietary intervention decreased insulin signaling molecules including IRS-1, IRS-2, PI3K and mTOR mRNA expressions and protein levels in testicular samples of rats. In addition, IR, p-Akt, eNOS, p-eNOS and SIRT1 protein levels as well as p-Akt/Akt and p-eNOS/eNOS ratios were decrease in testicular tissue of fructose-treated rats. Also, It was determined that claudin11 and N-cadherin levels of Blood-Testis Barrier proteins were decreased with fructose diet. Moreover, dietary fructose suppressed anti-apoptotic Bcl-2 mRNA and protein expressions. In immunohistochemical staining, high fructose consumption was shown to reduce spermatogonial p53 and caspase8 levels. Hematoxylin-Eosin staining showed that testicular degeneration was occurred in the rats due to intake of high-fructose diet. Consequently, high fructose consumption caused inflammation and apoptosis as well as suppressed Blood-Testis Barrier and insulin signaling pathway proteins in testicular tissue of rat. Thus, for the first time, this study explored the effects of fructose consumption on testicular inflammatory, apoptotic and insulin signaling pathways.

Science Code : 10103.03

Key Words : Fructose, testis, insulin signaling pathway, inflammation, apoptosis

Page Number : 172

Supervisor : Prof. Dr. Fatma AKAR

TEŞEKKÜR

Bilgisiyle bana ışık tutan, tecrübesi ve hoşgörüsüyle her zaman destek olan, tez çalışmam boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen, yol gösteren, bilgi birikimleriyle çalışmamın sonuçlanmasını sağlayan çalışmaktan keyif aldığım değerli danışmanım Prof. Dr. Fatma AKAR'a,

Eğitimim boyunca engin bilgilerini benimle paylaşan Doç. Dr. Gökhan SADİ'ye,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Halit Buğra KOCA'ya

Akademik gelişimimdeki katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, Dr. Öğr. Üyesi Nur Banu BAL, Hacer Şirin ve Ecz. Ceren Güney'e,

Hayatımda her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen dostlarıma,

Artvin Çoruh Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO'da ki çok değerli mesai arkadaşlarıma,

Hayattaki en büyük şansım olduğuna inandığım, bana iyi bir insan olmak için merhameti, adaleti ve dürüst olmayı öğreten ve her koşulda bana destek olan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Metabolik Sendrom ve Tanı Kriterleri.....	7
2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler.....	10
2.3. Metabolik Bozukluklar ve İnfertilite.....	12
2.4. İnsülin Sinyal Yolağı ve Reprodüktif Sistem.....	17
2.5. Fruktoz	23
2.5.1. Fruktozun kimyasal yapısı.....	24
2.5.2. Fruktozun absorpsiyon ve metabolizması.....	25
2.5.3. Monosakkaritler ve disakkaritler	27
2.5.4. Fruktoz, insülin direnci ve metabolik sendrom	29
2.5.5. Apoptozis, metabolik bozukluklar ve fruktoz diyeti ilişkisi	33
2.5.6. İnflamasyon, metabolik bozukluklar ve fruktoz diyeti ilişkisi.....	36
2.6. Metabolik Hastalık Modellerinde Testiküler Fonksiyon Bozuklukları ile İlgili Mekanizmalar	40
2.6.1. Metabolik bozukluklarda Kan-Testis Bariyeri	48
2.6.2. Fruktozlu diyetin testis fonksiyonu üzerine etkileri	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1. Deney Hayvanları ve Diyet.....	57
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	58
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	58
3.4. Sıçanların Ağırlık, Günlük Yem, Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı Hesaplanması	59
3.5. Plazma ve Testis Doku örneklerinin alınması	59

Sayfa

3.6. Biyokimyasal Parametreler	59
3.6.1. Plazma glukoz düzeyi ölçümü.....	60
3.6.2. Plazma trigliserit düzeyi ölçümü.....	60
3.6.3. Plazma insülin düzeyinin ölçümü	60
3.6.4. Plazma östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü	61
3.6.5. Testiste östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü.....	61
3.6.6. Testiste TNF α ve IL-1 β düzeyi ölçümü	61
3.7. Testis Gen Ekspresyonlarının kantitatif Real Time-PCR Yöntemi ile Tayini	62
3.7.1. Doku homojenizasyonu ve toplam RNA izolasyonu.....	62
3.7.2. cDNA sentezi	64
3.7.3. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemiyle <i>ir-β</i> , <i>irs-1</i> , <i>irs-2</i> , <i>pi3k</i> , <i>akt</i> , <i>enos</i> , <i>mtor</i> , <i>sirt1</i> , <i>caspase3</i> ve <i>bcl-2</i> ifadelerinin belirlenmesi	64
3.8. Testis Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile Tayini	65
3.8.1. Doku homojenizasyonu ve toplam protein miktar tayini	65
3.8.2. Western Blot yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	66
3.8.3. Western Blot yöntemi ile ve IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, p-Akt, eNOS, p-eNOS, mTOR, SIRT1, claudin11, N-cadherin, GLUT5, Bcl-2 ve caspase3 protein ölçümü.....	67
3.9. Testis Dokusunda Histopatolojik ve İmmunohistolojik İncelemeler	69
3.9.1. Histopatolojik incelemeler	69
3.9.2. İmmunohistokimyasal çalışmalar	70
3.10. İstatistiksel Analiz.....	71
4. BULGULAR.....	73
4.1. Sıçanların Testis ve Vücut Ağırlık, Günlük Kalori Alımı, Yem ve Su Tüketim Miktarları	73
4.2. Biyokimyasal Parametreler	74
4.2.1. Plazma glukoz düzeyleri	74
4.2.2. Plazma trigliserit düzeyleri	75
4.2.3. Plazma insülin düzeyleri.....	76
4.2.4. Plazma total ve serbest testosteron düzeyleri.....	77
4.2.5. Testis total ve serbest testosteron düzeyleri	78
4.2.6. Plazma ve testis östrojen düzeyi.....	79
4.2.7. Testis TNF α ve IL-1 β düzeyleri	80
4.3. Testis Gen Ekspresyonlarının Real Time-qPCR Yöntemi ile Ölçümü.....	81
4.3.1. Sıçan testis dokusunda <i>ir-β</i> mRNA ekspresyon düzeyi	81
4.3.2. Sıçan testis dokusunda <i>irs-1</i> mRNA ekspresyon düzeyi.....	82

Sayfa

4.3.3. Sıçan testis dokusunda <i>irs-2</i> mRNA ekspresyon düzeyi.....	83
4.3.4. Sıçan testis dokusunda <i>pi3k</i> mRNA ekspresyon düzeyi	84
4.3.5. Sıçan testis dokusunda <i>akt</i> mRNA ekspresyon düzeyi.....	85
4.3.6. Sıçan testis dokusunda <i>enos</i> mRNA ekspresyon düzeyi	86
4.3.7. Sıçan testis dokusunda <i>mtor</i> mRNA ekspresyon düzeyi	87
4.3.8. Sıçan testis dokusunda <i>sirt1</i> mRNA ekspresyon düzeyi.....	88
4.3.9. Sıçan testis dokusunda <i>bcl-2</i> mRNA ekspresyon düzeyi.....	89
4.3.10. Sıçan testis dokusunda <i>caspase3</i> mRNA ekspresyon düzeyi	90
4.4. Testis Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile Ölçümü.....	91
4.4.1. Sıçan testis dokusunda IR protein ekspresyon düzeyi.....	91
4.4.2. Sıçan testis dokusunda IRS-1 protein ekspresyon düzeyi	92
4.4.3. Sıçan testis dokusunda IRS-2 protein ekspresyon düzeyi	93
4.4.4. Sıçan testis dokusunda PI3K protein ekspresyon düzeyi	94
4.4.5. Sıçan testis dokusunda Akt ve p-Akt protein ekspresyon düzeyi.....	95
4.4.6. Sıçan testis dokusunda eNOS ve p-eNOS protein ekspresyon düzeyi... 98	
4.4.7. Sıçan testis dokusunda mTOR protein ekspresyon düzeyi.....	101
4.4.8. Sıçan testis dokusunda SIRT1 protein ekspresyon düzeyi	102
4.4.9. Sıçan testis dokusunda Bcl-2 protein ekspresyon düzeyi	103
4.4.10. Sıçan testis dokusunda caspase3 protein ekspresyon düzeyi	104
4.4.11. Sıçan testis dokusunda GLUT5 protein ekspresyon düzeyi.....	105
4.4.12. Sıçan testis dokusunda claudin11 protein ekspresyon düzeyi.....	106
4.4.13. Sıçan testis dokusunda N-cadherin protein ekspresyon düzeyi.....	106
4.5. Histopatolojik ve İmmunohistolojik Değerlendirme.....	107
5. TARTIŞMA.....	115
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	127
KAYNAKLAR	129
EKLER.....	167
EK-1 ETİK KURUL İZİNİ.....	168
EK-2 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI.....	170
ÖZGEÇMİŞ	171

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Vasküler insülin sinyal iletim sistemi	19
Şekil 2.2. Fruktoz, glukoz ve sukrozun kimyasal yapısı	25
Şekil 2.3. Fruktoz absorpsiyonu	26
Şekil 2.4. Fruktoz metabolizması	27
Şekil 2.5. Bozulmuş vasküler insülin sinyal iletim sistemi	33
Şekil 2.6. Testis seminifer tübül ve sperm olgunlaşması	42
Şekil 2.7. Metabolik sendrom, Tip 2 diyabet ve obezitede insülin direnci ve testosteron düzeyi.....	47
Şekil 2.8. Kan-Testis Bariyer bileşenleri.....	49
Şekil 2.9. Yüksek fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine olası etkileri.....	55
Şekil 3.1. Toplam RNA izolasyon protokolü	63
Şekil 4.1. Plazma glukoz düzeyleri.....	74
Şekil 4.2. Plazma trigliserit düzeyleri	75
Şekil 4.3. Plazma insülin düzeyleri.....	76
Şekil 4.4. Plazma total testosteron düzeyleri	77
Şekil 4.5. Plazma serbest testosteron düzeyleri	77
Şekil 4.6. Testis total testosteron düzeyleri.....	78
Şekil 4.7. Testis serbest testosteron düzeyleri.....	78
Şekil 4.8. Plazma östrojen düzeyleri	79
Şekil 4.9. Testis östrojen düzeyleri	79
Şekil 4.10. Testis TNF α düzeyleri	80
Şekil 4.11. Testis IL-1 β düzeyleri	80
Şekil 4.12. Testis örneklerinde <i>ir-β</i> mRNA miktarı	81
Şekil 4.13. Testis örneklerinde <i>irs-1</i> mRNA miktarı.....	82
Şekil 4.14. Testis örneklerinde <i>irs-2</i> mRNA miktarı.....	83
Şekil 4.15. Testis örneklerinde <i>pi3k</i> mRNA miktarı	84
Şekil 4.16. Testis örneklerinde <i>akt</i> mRNA miktarı.....	85

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. Testis örneklerinde <i>enos</i> mRNA miktarı.....	86
Şekil 4.18. Testis örneklerinde <i>mtor</i> mRNA miktarı	87
Şekil 4.19. Testis örneklerinde <i>sirt1</i> mRNA miktarı.....	88
Şekil 4.20. Testis örneklerinde <i>bcl-2</i> mRNA miktarı.....	89
Şekil 4.21. Testis örneklerinde caspase3 mRNA miktarı	90
Şekil 4.22. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IR gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	91
Şekil 4.23. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IRS-1 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	92
Şekil 4.24. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IRS-2 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	93
Şekil 4.25. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde PI3K gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	94
Şekil 4.26. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde Akt gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	95
Şekil 4.27. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-Akt gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	96
Şekil 4.28. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-Akt/Akt protein düzeyi oranı	97
Şekil 4.29. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde eNOS gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	98
Şekil 4.30. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-eNOS gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	99
Şekil 4.31. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-eNOS/eNOS protein düzeyi oranı	100
Şekil 4.32. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde mTOR gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	101
Şekil 4.33. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde SIRT1 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	102
Şekil 4.34. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde Bcl-2 temsili bant görüntüsü ve protein düzeyi	103
Şekil 4.35. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde caspase3 temsili bant görüntüsü ve protein düzeyi	104
Şekil 4.36. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde GLUT5 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	105

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.37. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde claudin11 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	106
Şekil 4.38. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde N-cadherin gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi	107
Şekil 5.1. Yüksek fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine etkisini gösteren sonuçlarımız	125



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri	8
Çizelge 3.1. Real Time-qPCR deneylerinde kullanılan primer çiftler	65
Çizelge 3.2. Poliakrilamid jel hazırlanışı.....	67
Çizelge 4.1. Sıçanların testis ve vücut ağırlık, günlük kalori alım, yem ve su tüketim miktarları	73
Çizelge 4.2. Testiküler caspase8 immunpozitif hücre dağılımı	111
Çizelge 4.3. Testiküler p53 immunpozitif hücre dağılımı.....	113



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Sıçan testis dokularına ait Hematoksilen-Eozin boyama görüntüsü	109
Resim 4.2. Kontrol grubu testis dokusunda caspase8 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü	110
Resim 4.3. Fruktoz grubu testis dokusunda caspase8 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü	111
Resim 4.4. Kontrol grubu testis dokusunda p53 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü	112
Resim 4.5. Fruktoz grubu testis dokusunda p53 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü	113



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
a/h	Ağırlık/hacim
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
dl	Desilitre
g	Gram
g/gün	Gram/gün
g/kg	Gram/kilogram
g/100g va	Gram/yüz gram vücut ağırlığı
h/h	Hacim/hacim
kg/m ²	kilogram/metre kare
kcal	Kilokalori
L	Litre
μ g	Mikrogram
μ g/ml	Mikrogram/mililitre
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
μ M	Mikromolar
mg	Miligram
mM	Milimolar
M	Molar
ng	Nanogram
N	Normal
mg/kg	Miligram/kilogram
mg/dl	Miligram/desilitre
mg/ml	Miligram/mililitre
ng/g	Nanogram/gram

Simgeler**Açıklamalar**

ng/ml	Nanogram/mililitre
nm	Nanometre
pg/L	Pikogram/litre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ABC-P	Avidin Biotin Kompleks Peroksidaz
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIF	Apoptoz İndükleyici Faktör
AİDÇG (EGIR)	Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
Akt	Protein Kinaz B
ALT	Alanin Aminotransferaz
AMP	Adenozin Monofosfat
Apo	Apolipoprotein
APS	Amonyum Persülfat
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
Bax	Bcl-2-Bağlantılı X Protein
Bcl	B-Hücre Lenfoma
Bcl2	B-Hücre Lenfoma 2
BSA	Sığır Serum Albümini
CaCl₂	Kalsiyum klorür
cDNA	Komplamenter DNA
CO₂	Karbondioksit
COX	Siklooksijenaz
C_P	Kritik Eşik Döngü Sayısı
CRP	C-Reaktif Protein
CuSO₄.5H₂O	Bakır Süfat Pentahidrat
DAG	Diaçilgliserol

Kısaltmalar**Açıklamalar**

DEPC	Dietil Pirokarbonat
DHAP	Dihidroksiaseton Fosfat
DHT	Dihidrotestosteron
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
DSÖ (WHO)	Dünya Sağlık Örgütü
ECL	Enhanced Chemiluminescence
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ET-1	Endotelin-1
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GAP	Gliseraldehit
GAPDH	Gliser Aldehit Fosfat Dehidrojenaz
GLUT	Glukoz Taşıyıcısı
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
H&E	Hematoksilen-Eosin
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HbA1c	Hemoglobin A1c
HCl	Hidroklorik Asit
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HRP	Horseradish Peroksidaz
HSD	Hidroksisteroid Dehidrojenaz
ICAM-1	Hücreler Arası Adezyon Molekülü-1
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGF-1R	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü
IL	İnterlökin
IR	İnsülin Reseptör
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
JNK	c-Jun N-Terminal Kinaz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

KCl	Potasyum Klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
KTB	Kan-Testis Bariyeri
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LH	Luteinleştirici Hormon
L-NAME	Nitro-L-Arginin Metilesteri
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MCP-1	Monosit Kemoatraktant Protein-1
MDA	Malondialdehit
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
mRNA	Mesajcı RNA
mTOR	Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
NaCl	Sodyum Klorür
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat
Na-K tartarat	Sodyum Potasyum Tartarat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NF-κB	Nükleer Faktör Kapa B
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
Nrf2	Nükleer Faktör Eritroid 2–İlişkili Faktör 2
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGI	Prostaglandin
PI3K	3-Fosfatidilinozitol Bağımlı Protein Kinaz
PIP2	Fosfoinozitol Difosfat
PIP3	Fosfoinozitol Trifosfat
PMSF	Fenilmetilsülfonil Florür
PPAR-α	Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör-α
PVDF	Polivinilidin Florür
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri

Kısaltmalar**Açıklamalar**

SGLT1	Sodyum Bağımlı Glukoz Taşıyıcısı 1
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
SIRT	Sirtuin
StAR	Steroidojenik Akut Düzenleyici Protein
TBS-T	Tris Buffered Saline-Tween
TEMED	Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
TEMED	Tetrametiletildiamin
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktör
TNFα	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TxA₂	Tromboksan A ₂
VCAM	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ZO-1	Zonula Okludens-1

1. GİRİŞ

Sofralarda kullanılmak üzere şeker üretiminin başlaması 18. yüzyıla dayanmaktadır. Günümüzde gazlı içecek, meyve suyu ve tatlı yiyecekler gibi birçok üründe düşük maliyet, özgün tadı maskelememesi, stabilite sorununun az olması ve raf ömrünü uzatması gibi avantajları nedeniyle fruktoz, rafine şekerin yerine kullanılmaktadır [1]. Son yıllarda yapılan çalışmalar günlük enerji ihtiyacımızın kaynağı olarak şeker tüketimi toplumdan topluma değişmekle birlikte yaklaşık %7-20 oranında olduğunu göstermektedir [2]. İnsan ve deney hayvanlarında yapılan birçok çalışma, diyet içinde alınan yüksek fruktozun; plazma glukoz, insülin ve lipit düzey artışının yanı sıra çeşitli dokularda reaktif oksijen türleri, inflamasyon, apoptozis ve insülin direnci artışı ile karaciğer yağlanması, Tip 2 diyabet, obezite ve metabolik sendroma yol açtığını göstermektedir [3].

Metabolik sendrom insülin direnci, abdominal yağlanma, hipertansiyon ve hipertrigliseridemi ile karakterize kardiyovasküler, diyabetik ve inflamatuvar risk faktörlerinin birleştiği klinik bir tablodur. Yeterli fiziksel aktivitenin yapılmaması, yüksek karbonhidratlı ve şekerli diyet ile beslenme metabolik sendrom ve obezitenin en önemli tetikleyicileri arasında olduğu bilinmektedir [4]. Son yirmi yılda yapılan çalışmalarda metabolik sendrom ve obezite görülme sıklığının gün geçtikçe arttığı görülmektedir. Son yıllardaki çalışmalara göre Amerika Birleşik Devletleri (ABD) yetişkin nüfuzundaki metabolik sendrom görülme sıklığının %34,7 olduğu bilinmektedir [5]. Ülkemizde ise 20-83 yaş arası yetişkinlerde bu oranın %36,6 olduğu saptanmıştır [6]. Ayrıca, ülkemizde 2020 yılında yapılan bir çalışmada, 35-70 yaş aralığındaki bireylerde metabolik sendrom görülme sıklığının %49,4 olduğu rapor edilmiştir [7]. Ayrıca, obezite görülme sıklığının ABD'de %42,4, ülkemizde ise 2016 yılı verilerine göre %32,1 olduğu bilinmektedir [8, 9]. Dünya Obezite Federasyonu 2020 raporuna göre, Türkiye'deki yetişkinlerde obezite görülme sıklığının 2025 yılında %40,5 olabileceği öngörülmektedir [10]. Artan metabolik sendrom ve obezite sıklığı, ilerleyen yıllarda insan sağlığı için daha büyük sorunlara neden olacağını düşündürmektedir.

Günümüzde yapılan çalışmalar Tip 2 diyabet, obezite ve metabolik sendrom gibi hastalıkların erkeklerde testosteron düzeyi azalması ile birlikte seyrettiğini göstermektedir [11-13]. Plazma testosteron düzeyinin düşüklüğü, metabolik sendrom belirteçleri olan hiperglisemi, dislipidemi, insülin direnci ve inflamasyon gibi metabolik bozukluklarla birlikte görülmektedir [14, 15]. İnfertil erkeklerde de yapılan araştırmalarda testosteron düzeyinin azalması ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır [16-19]. Bu çalışmalar plazma testosteron düzeyi azalmasının metabolik sendrom belirteci olabileceğini düşündürmektedir. Bu sebeple fruktoz kaynaklı metabolik sendromun erkek reproduktif sistem üzerine etkileri araştırılmaktadır. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar yüksek fruktoz tüketiminin plazma, adipoz doku ve testiküler testosteron düzeyinin azalmasına neden olduğunu göstermektedir [20-22]. Plazma testosteron düzeyinin baskılanmasının testiste oksidatif stresi artırarak apoptozisi tetiklediği bilinmektedir [23, 24]. Bu sebeple, fruktoz tüketiminin neden olduğu testosteron düzeyinin baskılanmasının, testiküler oksidatif stresi artırarak apoptotik yolları aktive edebileceği düşünülmektedir. Fruktoz tüketimin testiküler apoptozis üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; içme suyu içinde yüksek fruktoz tüketen insülin direnci gelişmiş hayvan seminifer tübüllerinde apoptotik hücre sayısının arttığı tespit edilmiştir [25]. Ancak, fruktoz tüketimi sonucu artan testiküler apoptozisin mekanizmaları aydınlatılamamıştır.

Spermatojenik hücreleri bağışıklık sisteminden ve dış etmenlerden koruyan yapı Kan-Testis Bariyeri (KTB) ve bütünlüğünün bozulmasının infertiliteye neden olduğu bilinmektedir [26, 27]. Ayrıca, diyet içinde fruktoz alımının oksijen radikallerini artırmasının yanı sıra, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) ve interlekin-1beta (IL-1 β) gibi inflamatuvar sitokinleri tetikleyerek vücutta çeşitli dokularda inflamasyona neden olmaktadır [28-30]. Fruktoz tüketiminin testiküler doku üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda, fruktoz diyetinin testiküler oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir [31, 32]. Laboratuvarımızda yaptığımız çalışmada, içme suyu içinde fruktoz tüketiminin testiküler inflamatuvar sitokinleri uyararak testiküler inflamasyon ve dejenerasyona neden olduğu saptanmıştır [21]. Diğer bir çalışmamızda, fruktoz tüketiminin testiküler anti-apoptotik B-hücre lenfoma (Bcl)-2 proteinini baskıladığı; apoptotik caspase3 düzeyinde artış eğilimi gösterse de kontrole kıyasla anlamlı olmadığı

tespit edilmiştir [33]. Ayrıca, yapılan çalışmalarda testiküler inflamasyon ve apoptozis artışının; testosteron düzeyini baskıladığı ve KTB bütünlüğünü bozarak sperm parametreleri üzerine olumsuz etkiler gösterdiği bildirilmektedir [34-36]. Literatürde fruktoz diyetinin KTB üzerine etkisinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu veriler, fruktoz diyeti sonucu testiküler oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozis artışının; KTB'nin yapısını oluşturan proteinleri baskılayarak infertiliteye neden olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan histolojik incelemelerde içme suyu veya diyetle alınan yüksek fruktozun; Sertoli hücre dejenerasyonu, germ hücre kaybı, seminifer tübülde yapısal bozukluklar ve anormal tübül sayısında artışa neden olduğu bildirilmiştir [25, 37, 38]. Ayrıca, içme suyu içinde yüksek fruktoz tüketiminin; sperm sayı ve konsantrasyonlarının yanı sıra hareketli sperm miktarını da azalttığı bilinmektedir [39]. Fruktoz tüketimi sonucu bozulan sperm parametreleri, KTB bütünlüğünün bozulması kaynaklı olabilir. Bu sebeple fruktoz tüketiminin KTB proteinleri üzerine etkilerinin incelenmesi gerekmektedir.

İnsülin, glukozun hücre içine alınmasının yanı sıra çeşitli fizyolojik etkileri olan anabolik bir hormondur. Bu etkileri, hücre membranında bulunan insülin reseptörü (IR), insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) ve insülin reseptör substratı-2 (IRS-2); hücre içinde bulunan 3-fosfatidilinozitol bağımlı protein kinaz (PI3K) ve protein kinaz B (Akt) proteinleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Testiküler dokudaki çoğu hücrede lokalize olan insülin sinyal proteinleri gonadların gelişmesi, Sertoli hücre sayı ve büyüklüğünü düzenlemesinde önemli görevler almaktadırlar [40-42]. Yapılan çalışmada, IRS-2 geni silinmiş hayvanlarda testis ağırlığı, seminifer epitel boy ve çapının yanı sıra Sertoli ve spermatosit hücre miktarlarında anlamlı bir azalmanın olduğu gösterilmiştir [42]. İnsülin tarafından uyarılan PI3K ve Akt proteinlerinin, endotelial nitrik oksit sentazı (eNOS) aktive ettiği bilinmektedir. Ayrıca, insülin direnci ile eNOS ekspresyon baskılanmasının ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür [43, 44]. İnsan ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalar eNOS'un germ, Leydig, Sertoli ve endotel hücrelerinde eksprese edildiğini göstermektedir [45, 46]. eNOS'un testiküler mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde, spermatogenez ve sperm olgunlaşmasında fonksiyonel rol oynadığı bilinmektedir [47, 48]. Ayrıca, N-cadherin gibi çeşitli KTB proteinlerinin düzenlenmesinde, eNOS'un ilişkili olduğu bilinmektedir [49]. Ancak, fruktoz kaynaklı metabolik sendrom gelişen hayvanlarda

testiküler inflamasyonun insülin sinyal yolağı ve eNOS'u baskılayabileceğı; bunun sonucunca KTB bütünlüğünü sağlayan protein düzeylerini azaltabileceğini gösteren çalışma bulunmamaktadır. İnsülinin tetiklediğı PI3K-Akt yolağı tarafından uyarılabilen rapamisin protein kompleksinin memeli hedefinin (mTOR) hücre proliferasyonu, büyümesi, farklılaşması ve apoptozisini düzenlenmesinin yanı sıra spermatogenez ve KTB'nin düzenlenmesinde rolü olduğu bilinmektedir [50, 51]. Klinik çalışmalar, rapamisin tarafından inhibe edilen mTOR'un infertiliteye neden olduğunu göstermektedir [52]. Seminifer tübülde bulunan Sertoli hücreler, spermatojenik germ hücre gelişimini destekleyen ve sıkı bağlantı proteinleri sayesinde KTB'nin ana bileşenlerini oluşturan organizmadaki somatik hücrelerden biridir. Sertoli hücre proliferasyonu ana sinyal iletim yolağını PI3K, Akt ve mTOR proteinleri oluşturmaktadır [53]. Ayrıca, KTB proteinleri occludin ve claudin11 düzenlenmesinde mTOR'un görevli olduğunu gösterilmiştir [54, 55]. Çalışmalar sağlıklı spermlerin oluşması, KTB bütünlüğünün korunması ve spermatogenezin sürdürülebilmesi için insülin tarafından uyarılabilen PI3K, Akt ve mTOR sinyal yolağının önemli olduğunu göstermektedir. Bu sebeple fruktoz kaynaklı testosteron düzeyindeki azalma ve olası infertilite ilişkisi; testiküler dokudaki insülin sinyal yolağı proteinlerinin araştırılmasıyla mümkün olacaktır. Laboratuvarımızda fruktoz tüketiminin hepatik insülin sinyal yolağından *ir*, *irs-1* ve *irs-2* mRNA ekspresyonlarının yanı sıra IRS-1, IRS-2, p-Akt ve p-eNOS protein düzeylerini baskılayarak insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada fruktoz tüketiminin adipoz doku *irs-1*, *irs-2* ve *enos* mRNA düzeylerini de baskıladığı gösterilmiştir [56]. Fruktoz diyetinin renal insülin sinyal yolağı üzerine etkisini çalıştığımız çalışmada ise, fruktoz tüketiminin renal *irs-1* mRNA ekspresyonunun yanı sıra IRS-1, Akt ve eNOS protein düzeylerini baskılayarak insülin direncine neden olduğunu gösterilmiştir [57]. Bu bulgular, yüksek fruktoz tüketimi kaynaklı metabolik sendromda, testiküler inflamatuvar ve apoptozisin artacağı, gelişen testiküler insülin direnciyle birlikte KTB bütünlüğünün bozulabileceğine işaret etmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, yüksek fruktoz diyetinin testis dokusunda insülin sinyal yolağı, inflamasyon, apoptozis, KTB proteinleri ve histolojik değişiklikler üzerine etkilerini ve bu parametreler arasındaki ilişkileri araştırmaktır. Son yıllarda metabolik sendrom ve obezitede ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelen

infertiliteye yönelik mekanizmalarının aydınlatılması toplum sağlığı için oldukça önemlidir. Bu sebeple, diyet içinde fazla fruktoz tüketiminin erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin incelenmesi infertilite nedenlerinin anlaşılması açısından önemli olacaktır.





2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom ve Tanı Kriterleri

İlk kez 1988 yılında Reaven tarafından tanımlanan metabolik sendrom; insülin direnci, abdominal yağlanma, hipertansiyon, HDL kolesterol düşüklüğü, açlık kan glukoz ve trigliserit düzeyi artışıyla karakterize kardiyovasküler, diyabetik ve inflamatuvar risk faktörlerinin birleştiği klinik bir tablodur [58, 59]. Hareketsiz yaşam tarzı, dengesiz ve aşırı beslenme insülin direncini aşık hale getirerek, metabolik sendroma yol açabilmektedir. Geçtiğimiz yüzyılın sonlarında, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki metabolik sendrom sıklığındaki artış ile hazır gıda ve meşrubatlarda kullanılan fruktoz arasında bir paralellik olduğu gözlemlenmiştir [60]. Obezite, diyabet ve kardiyovasküler bozukluklar ile ilişkilendirilen metabolik sendromda, klinik açıdan riskli bireylerin belirlenmesi amacıyla Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ; WHO) tarafından ilk olarak tanı kriterleri ortaya konulmuştur [61]. Sonraları, Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (AİDÇG (EGIR), European Group for Study of Insulin Resistance; [62], Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III (AKEP ATP-III; [63] ve Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMĐ; [64] gibi organizasyonlar kendi tanı kriterlerini yayınlamışlardır. Ortak tanı kriterleri koymak amacıyla 2009'da yapılan sağlık otoriteleri toplantısında: kan glukoz ve trigliserit düzeyi, bel çevresi ve kan basıncının limitlerin üzerinde artmasının yanı sıra, HDL düzeyi azalmasının metabolik sendrom ortak tanı kriterleri olarak belirlenmesi kararlaştırılmıştır [58]. Metabolik sendrom ortak tanı kriterleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri

	DSÖ 1998 (WHO)	AİDÇG 1999 (EGIR)	TEMĐ (2005)	AKEP 2005 ATP-III	Ortak Tanım 2009
Zorunlu Kriterler	Bozulmuş glukoz toleransı, Tip 2 Diyabet, bozulmuş açlık glukoz veya azalmış insülin duyarlılığı	İnsülin direnci veya hiperinsülinemi	Diabetes mellitus veya insülin direnci veya bozulmuş glukoz toleransı	-	-
Diğer kriterler	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 3 kriter	+herhangi 3 kriter
Vücut Ağırlığı	Bel-kalça oranı Erkek >0.90 Kadın >0.85 VKİ >30kg/m ²	Bel çevresi Erkek ≥ 94 cm Kadın ≥ 80 cm	Bel çevresi Erkek ≥ 94 cm Kadın ≥ 80 cm veya VKİ > 30kg/m ²	Bel çevresi Erkek ≥ 102 cm Kadın ≥ 88 cm	Bel çevresi Erkek ≥ 90-94 cm (etnisiteye göre) Kadın ≥ 80cm
Lipit Düzeyi	Trigliserit ≥ 150mg/dl ve/veya HDL<35 (erkek) HDL<39 (kadın)	Trigliserit ≥ 150 mg/dl ve/veya HDL<39	Trigliserit ≥ 150mg/dl ve/veya HDL< 40 (erkek) HDL< 50 (kadın)	1) Trigliserit ≥ 150 mg/dl 2) HDL< 40 (erkek) HDL< 50 (kadın)	Trigliserit ≥ 150mg/dl ve/veya HDL< 40 (erkek) HDL< 50 (kadın)
Tansiyon	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg	>130/85 mmHg	≥130/85 mmHg	>130/85 mmHg
Glukoz	Zorunlu kritere bakınız	≥ 135mg/dl (diyabet yok)	Zorunlu kritere bakınız	≥ 100mg/dl (diyabet dahil)	≥ 100 mg/dl

DSÖ (WHO): Dünya Sağlık Örgütü

AİDÇG (EGIR) Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu

TEMĐ: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği

AKEP ATP-III: Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III

Günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunları arasında yer alan obezite ve diyabet, metabolik sendromu tetikleyen nedenlerin başında gelmektedir [65]. DSÖ, Avrupa'daki yetişkinlerde görülen Tip II diyabet vakalarının %80'i, iskemik kalp hastalıklarının %35'i ve hipertansiyonun %55'inden obezitenin sorumlu olduğunu bildirmiştir [66]. Ayrıca, DSÖ'nün 2016 yılındaki raporuna göre 1,9 milyar yetişkinin Vücut Kitle İndeksi (VKİ) >25 kg/m² olarak fazla kilolu, 650 milyon yetişkinin ise obez (VKİ>30 kg/m²) olduğu bildirilmiştir [67]. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, yetişkinlerde obezite prevalansının 2000'den bu yana 1,5 kat arttığı belirtilmiştir [68]. ABD'de 2003-2012 yılları arası yetişkin bireylerde obezite dağılımının %35 olduğu saptanırken; 2015-2016 yılları

arasındaki yapılan çalışmada %39,8'e çıktığı belirtilmiştir [69, 70]. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda ABD'deki yetişkin bireylerde obezite oranının %42,4'e yükseldiği bildirilmiştir [9]. Satman ve ekibi tarafından yapılan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans (TURDEP)-I çalışması sonucunda 1997-1998 yılları arası obezite prevalansının %22,3 olduğu saptanmıştır [71]. Çalışma (TURDEP-II) 2010 yılında aynı merkezlerde tekrarlanmış ve yapılan çalışma sonucunda toplumda (20 yaş üstü) obezite görülme sıklığının %31,2'e yükseldiği gösterilmiştir. İki çalışma karşılaştırıldığında, artan obezite sıklığının Türkiye'deki bireyler için büyük bir tehlike oluşturacağı öngörülmüştür [72]. Ayrıca, DSÖ'nün 2016 yılı raporuna göre ülkemizdeki 18 yaş üstü obezite görülme sıklığının %32,1 olduğu bildirilmiştir [8]. Dünya Obezite Federasyonu 2020 yılı raporunda ise ülkemiz yetişkinlerinde obezite görülme sıklığının 2025 yılında %40,5 olabileceği ileri sürülmüştür [10].

Uluslararası Diyabet Federasyonun (IDF) 2019'da yayınladıkları atlasa göre küresel diyabet prevalansının %9,3 olduğu bildirilmiştir. Eldeki veriler ile yapılan projeksiyon sonucu, dünyada diyabet prevalansının, 2030 yılında %10,2'e ve 2045 yılında ise %10,9'a yükselmesi öngörülmektedir [73]. İlginçtir ki, kırsal bölgelerde yaşayan ve ekonomik düzeyi düşük ülkelerdeki diyabet prevalansı, kentsel nüfusa ve gelişmiş ekonomiye sahip ülkelere kıyasla daha düşüktür. Atlasa göre Avrupa'da %8,9 olan yetişkin (20-79 yaş arası) diyabet prevalansının, Türkiye'de (6,6 milyon kişi) %12 ile bölgedeki en yüksek oran olduğu bildirilmiştir [73]. Satman ve ekibi Türkiye'de 1997-1998 yılları arası yaptığı TURDEP-I çalışmasında, 20-79 yaş aralığındaki erişkinlerde diyabet prevalansını %7,2 olarak saptamışlardır [71]. Ülkemizde 2004-2005 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada ise, 35 yaş ve üzeri bireylerdeki diyabet prevalansının %11,3 olduğu bildirilmiştir [74]. Ayrıca, TURDEP-II çalışmasına göre 2010 yılında Türkiye'deki diyabet prevalansının %13,7'e yükseldiği gösterilmiştir. Türkiye'de 12 yılı kapsayan TURDEP-II çalışması, ülkemizde %40 artan obezite prevalansının, %90 artan diyabet oranıyla eşlik ettiğini göstermesi açısından önemlidir [72].

Amerika Birleşik Devletler'de (ABD) 20. yüzyılın sonlarında yetişkin bireylerde metabolik sendrom prevalansının %24 oranında olduğu tespit edilmiştir [75]. ABD'de 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada, yetişkinlerde bu oranın %33'e

yükseldiği rapor edilmiştir [76]. Son yıllarda yapılan diğer bir çalışmada ise, ABD’de metabolik sendrom prevalansının yetişkinlerde %34,7 olduğu bildirilmiştir [5]. Sonuçlar metabolik sendrom görülme sıklığının giderek arttığını göstermektedir. Ülkemizde Kozan ve arkadaşlarının 2007 yılında yapılan Metabolik Sendrom araştırmasında AKEP ATP-III kriterlerine göre yetişkin bireylerde (20-90 yaş arası) metabolik sendrom prevalansının %33,9 olduğu bildirilmiştir. İlginçtir ki, erkeklerdeki metabolik sendrom prevalansının kadınlara göre daha düşük olduğu saptanmıştır [77]. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneğinin 2009 yılındaki verilerine göre Türkiye’de erişkinlerde metabolik sendrom görülme sıklığının %22 olduğu raporlanmıştır. Ayrıca, prevalansın yaş ile birlikte arttığı; 20-29 yaş gurubunda bu oran % 6,7 iken, 60-69 yaş gurubunda % 43.5 olduğu bildirilmiştir [64]. Ülkemizde 2013 yılında 20-83 yaşları arası yetişkinlerde yapılan diğer bir çalışmada ise metabolik sendrom prevanlasının IDF kriterlerine göre %44, AKEP ATP-III kriterlerine göre ise %36,6 olduğu rapor edilmiştir [6]. Ülkemizde 2020 yılında yapılan kapsamlı bir çalışmada ise 35-70 yaşları arası yetişkinlerde metabolik sendrom görülme sıklığının %49,4 olduğu bildirilmiştir [7].

2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler

Son yıllarda artan metabolik sendromun nedenleri arasında, ekonomik olarak kalkınmış ve şehirleşmiş toplumlardaki hareketsiz yaşam ile birlikte değişen beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı ve çevresel faktörler sayılabilir [78]. Günümüzde önemli sağlık sorunu sayılan obezitenin, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve Tip 2 diyabet ile doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir [79]. Metabolik sendrom ile kilo artışı arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada; obez bireylerde metabolik sendrom görülme sıklığının normal vücut ağırlığı olan bireylere kıyasla beş kat fazla olduğu bildirilmiştir [4]. Obezitenin nedenleri arasında yüksek karbonhidratlı ve şekerli diyet ile beslenme, yeterli fiziksel aktivitenin yapılmaması, yaşlanma, genetik faktörler, stres, kentleşme, sosyoekonomik unsurlar, eğitim seviyesi, tütün kullanımı, zararlı madde ve alkol kullanım gibi etmenler gösterilmektedir [4, 79].

Karbonhidrat, tatlandırıcı ve doymuş yağlarla zenginleştirilmiş Batı tarzı diyetinin (fast food) yaygınlaşmasının bir sonucu olarak, dünya çapında şişmanlık prevalansı 1980 ile 2014 arasında neredeyse ikiye katlanmıştır [80]. Dünya genelinde son otuz yılda, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu kullanımının meşrubat ve tatlandırılmış hazır gıdalar içinde artması sonucu fruktoz, fast food diyetiyle beslenen bireylerin ana enerji kaynaklarından biri haline gelmiştir [79, 81]. Son yıllarda insan ve deney hayvanlarında yapılan birçok çalışma, diyet içinde alınan fazla fruktozun glukoz, insülin ve lipid düzeylerini artırarak visseral ve karaciğer yağlanması yanı sıra, kardiyovasküler bozukluklar, Tip 2 diyabet ve obeziteye yol açtığını göstermektedir [79, 81].

Yapılan çalışmalar fast food tarzı beslenmenin; metabolik sendromun temel belirteçleri olan obezite, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir [82]. Son yıllarda Çin'de fast food tüketimi ile obezite ve hipertansiyon prevalansı arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma, hazır gıda tüketimindeki artışa bağlı olarak 7-16 yaş arasındaki çocuklardaki obezite oranının %11,1 (erkeklerde %15,2; kızlarda %6,9); hipertansiyon oranının ise %9'a ulaştığını göstermektedir [83]. Fast food tarzı beslenmenin miktara bağlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek fast food tüketiminin diğer gruplara göre daha fazla serum trigliserit düzeyini artırdığı belirtilmiştir. Ayrıca, fast food tüketiminin miktarı arttıkça metabolik sendrom görülme riskinin de miktarla orantılı bir şekilde arttığı gösterilmiştir [84]. Fiziksel aktivite ile metabolik sendrom prevalansı arasındaki ilişkinin incelendiği kapsamlı bir çalışmada; fiziksel aktivitenin metabolik sendrom oluşumunu azaltmada olumlu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [85]. Metabolik sendrom nedenlerinden biri sayılan hareketsiz yaşam tarzının adölesan dönemdeki gençler üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada; fiziksel aktivesi yüksek olan gençler ile santral obezite, trigliserit düzeyi ve kan basıncı gibi metabolik sendrom bileşenleri arasında negatif korelasyon olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, fiziksel aktivite ile azalan obezite, trigliserit düzeyi ve kan basıncının; metabolik sendroma karşı güçlü bir koruyucu faktör olabileceğini ileri sürmüşlerdir [86]. Metabolik sendromlu postmenopozal kadınlarda egzersizin glukoz homeostazı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; haftanın belirli günlerinde egzersiz yapmanın açlık kan şekeri ve insülin düzeyini azalttığı gösterilmiştir [87].

Diyet içine şeker ilavesi ile kan lipid parametreleri arasındaki ilişkinin incelendiği klinik bir çalışmada; enerji ihtiyacının şekerden karşılanma oranı arttıkça plazma HDL düzeyinin azaldığı, trigliserit seviyesinin ise arttığı tespit edilmiştir. İlginç olarak, şeker tüketimi arttıkça sadece kadınların plazma düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeylerinin arttığı bildirilmiştir [88]. Diğer bir klinik çalışmada, şekerle tatlandırılmış içecek tüketiminin, orta yaşlı kadınlarda kilo ve Tip 2 diyabet insidansında artışa neden olduğu saptanmıştır [89]. Klinik çalışmalar şekerle tatlandırılmış içecek tüketiminin; plazma açlık glukoz ve insülin düzey artışıyla ilişkili olduğunu göstermektedir [90]. Genç yetişkinlerde (18-40 yaş arası) 2 hafta boyunca şekerli içecek tüketiminin etkilerinin incelendiği bir çalışmada, şeker tüketiminin hepatik lipid içeriğini artırdığı ve insülin duyarlılığını azalttığı bildirilmiştir [91]. On iki hafta boyunca fruktozla (75 gram/gün) tatlandırılmış içeceklerle beslenen obezlerde, insülin direnci üzerine herhangi bir değişiklik yapmadan postprandiyal trigliserit düzeyi ve karaciğer yağ içeriğini artırdığı gösterilmiştir [92]. Yüksek fruktozlu mısır şurubu ile tatlandırılmış içeceklerin gençlerdeki metabolik etkilerinin incelendiği çalışmada, üç hafta boyunca şekerli içecek tüketen gençlerin serum ürik asit ve trigliserit düzeyinin yanı sıra bel çevre uzunluğunda artışa neden olduğu gösterilmiştir [93]. Fruktoz ve glukoz diyetinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 4 hafta boyunca fruktoz veya glukoz (150 g/gün) tüketen sağlıklı bireylerde insülin duyarlılığının azaldığı ayrıca, fruktoz tüketen grupta plazma trigliserit düzeyinin arttığı saptanmıştır [94]. Günlük enerji gereksinimlerinin %25'ini fruktoz ile tatlandırılmış içeceklerle karşılayan obezlerde yapılan bir çalışmada; tatlandırılmış içecek tüketen bireylerde dislipidemi, hiperglisemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci geliştiği belirtilmiştir [95]. Dünya genelinde ve ülkemizde obezite, diyabet ve metabolik sendrom prevalansındaki artışın, karbonhidrat ve özellikle şekerli içecek tüketimindeki artışla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir [96, 97]. Yapılan çalışmalar, insanların hareketsiz yaşam tarzı, tatlandırılmış içecek tüketimi ve fast food beslenme alışkanlıklarını sürdürmesi sonucunda dünya genelinde halk sağlığı sorunu olan metabolik sendrom insidansının artacağı öngörülmektedir.

2.3. Metabolik Bozukluklar ve İnfertilite

Reprodüktif sistem bozukluklarından biri olan infertilite, 12 ay veya daha uzun süre boyunca korunmasız ve düzenli cinsel ilişki sonucu gebe kalınamama durumu

olarak tanımlanmıştır [98, 99]. Dünya genelinde 48,5 milyon çifti etkilediği bildirilen infertilitenin, %50 oranında erkek kaynaklı olduğu saptanmıştır [100]. Sperm sayısı, motilite ve kalitesindeki azalma ile karakterize olan erkek infertilitesi, çevresel ve genetik faktörler sonucu testiste morfolojik ve endokrinolojik bozuklukların olduğu çok unsurlu bir hastalıktır. Obezite, insülin direnci ve inflamasyon gibi metabolik bozukluklar; testiküler germ hücre ölümü, histopatolojik değişiklikler, sperm parametrelerinin bozulması, erektil disfonksiyon gibi bir takım erkek reproduktif bozukluğun patogeneze yol açan sebepler arasında gösterilmektedir [19, 101-103].

Diyabet, çeşitli organlarda hasara neden olan yıkıcı bir metabolik hastalık olduğu bilinmektedir. Ayrıca, üreme sistemi üzerindeki en önemli komplikasyonlarına gonadal disfonksiyon ve kısırlık örnek gösterilebilir [104]. Tip 2 diyabet modeli oluşturulan Sprague-Dawley sıçanların incelendiği bir çalışmada; hiperglisemik sıçan testisinde inflamasyonun tetiklendiği ve oksidatif stresin arttığı saptanmıştır [105]. Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş farelerde yapılan bir çalışmada kontrole kıyasla diyabetik hayvanlarda serum luteinleştirici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosteron düzeyleri ile sperm sayısı ve canlılığında anlamlı bir azalmanın olduğu bildirilmiştir [106]. Wistar ratlarda Tip 2 diyabet modeli oluşturulan diğer bir çalışmada sperm miktar, hareketlilik ve canlılığında anlamlı bir azalmanın olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, epididimiden alınan semen örnekleri incelendiğinde diyabetin sperm nükleer kromatin kalitesinde değişikliklere neden olabileceği gösterilmiştir [107]. Tip 2 diyabetin spermatogenez ve testosteron üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada, hiperglisemik Wistar sıçanların sperm sayısı, canlılığı ve hareketliliğinin kontrole kıyasla azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, diyabetik hayvanlarda kontrole kıyasla normal morfolojiye sahip sperm yüzdesi ve serum testosteron düzeyi düşükken, anormal morfolojiye sahip sperm ve hareketsiz sperm miktarının istatistiki olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir [108].

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda testis ağırlığının azaldığı, fertilizasyon başarısı, sperm sayısı ve kalitesinin düştüğü bildirilmiştir [109]. Yüksek yağlı diyet ile metabolik sendrom indüksiyonu yapılan tavşanlarda plazma östradiol miktarının artmasının yanı sıra; LH, FSH ve testosteron düzeylerinin

azalarak hipogonadotropik hipogonadizm geliştiği bilinmektedir [110]. Yüksek yağlı diyet ile beslenen Yeni Zelanda tavşanlarında plazma testosteron, testis ve epididimis ağırlığının azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanların kontrole kıyasla sperm hareketliliğinde azalma ve sperm morfolojilerinde değişim gözlemlendiği bildirilmiştir [111]. Diğer bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen Wistar ratlarda kontrole kıyasla sperm hareketliliğindeki azalmaya, serum östradiol düzeyinde artışın eşlik ettiği saptanmıştır. Ek olarak, gruplar arasındaki serum testosteron düzeylerinin benzer olduğu bildirilmiştir [112]. Yüksek yağlı diyetle beslenerek alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gelişen Sprague-Dawley sıçanlarda, kontrole kıyasla artmış apoptotik germ hücre sayısına; azalmış testis ağırlığı, serum ve testis testosteron düzeyi, sperm sayı ve hareketliliğinin eşlik ettiği bildirilmiştir [113]. Testosteronun yüksek yağlı diyetle beslenerek metabolik sendrom oluşturulan deney hayvanları üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; kontrole kıyasla azalmış adiposit glukoz taşıyıcısı (GLUT)4 düzeyi ve fosfo-Akt (p-Akt)/Akt oranının testosteron uygulaması ile arttığı gösterilmiştir [114]. Ayrıca, fruktozdan zengin diyetin erkek reproduktif sistem fonksiyonları üzerine etkisi “fruktozlu diyetin testis fonksiyonu üzerine etkileri” bölümünde anlatılmıştır.

Tip 2 diyabetli obez hipogonadal erkeklerde testosteron replasman tedavisinin etkisinin incelendiği bir çalışmada, testosteron uygulamasının plazma insülin duyarlılığını ve endotelyal disfonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir [115]. Tip 2 diyabet, testosteron eksikliği ve cinsel fonksiyon bozukluğu için risk faktörü olarak kabul edilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda düşük testosteron düzeyi ile diyabetin ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür [116]. Ayrıca, yapılan çalışmalarda Tip 2 diyabet ve metabolik sendromlu yetişkin erkeklerde hipogonadotropik hipogonadizm görülme sıklığının %40'a kadar çıktığı bildirilmiştir [117]. Elabbay ve arkadaşlarının yaptığı klinik bir çalışmada, 55 yaşından büyük erkek Tip 2 diyabet hastalarının serum testosteron düzeylerinin diyabetik olmayan bireylere kıyasla düşük olduğu bildirilmiştir [118]. Hipogonadizmli prediyabetik erkeklerde testosteron tedavisinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, testosteron uygulaması yapılan grupta Hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) değerinin düştüğü, kan lipid profilinde iyileşmeler görüldüğü ve kan glukoz düzeyinin normal değerlere ulaştığı saptanmıştır [119]. Testosteron tedavisinin hipogonadal Tip 2 diyabetik bireylerdeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, testosteron uygulaması HbA_{1c},

plazma açlık glukoz ve insülin düzeylerinde anlamlı iyileşmeler yaparken, kontrol grubunda bu parametrelerin tedavi süresince arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, testosteron uygulanmış Tip 2 diyabetli bireylerin %46,6'sının glukoz düzeyinin normal değerlere ulaştığı gösterilmiştir [120]. Tip 2 diyabetik hastalarda testosteronun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; testosteron tedavisi sonrası hipogonadal erkeklerin plazma C-reaktif protein (CRP), IL-1 β ve TNF α düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir [121].

Erkeklerde kilo artışı, normal kilolu erkeklere kıyasla testosteron seviyesi, sperm kalitesi ve fertilitenin azalmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir [122]. Vücut ağırlığının ve erkek reproduktif sistem üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; subfertil erkeklerde VKİ ile östradiol düzeyi arasında paralellik olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, VKİ ile total testosteron ve Seks Hormon Bağlayıcı Globulin (SHBG) düzeyleri arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, normal kilolu erkeklere kıyasla VKİ>35 kg/m² olan obez bireylerde toplam sperm sayısının daha düşük olduğu ifade edilmiştir [123]. Santral obezitenin erkek fertilitesi üzerine etkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada, VKİ artışı ile progresif sperm hareketliliği ve toplam sperm sayısının baskılanması arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır [124]. Vücut kitle indeksinin seminal oksidatif stres üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada; VKİ artışıyla serum testosteron düzeyi ve sperm konsantrasyon azalışı arasında anlamlı korelasyon olduğu saptanmıştır. Ayrıca, VKİ ile serum östradiol ve sperm reaktif oksijen türleri arasında (ROS) pozitif korelasyon olduğu tespit bildirilmiştir [125].

Plazma testosteron düzeyi düşüklüğü ile metabolik sendromun ilişkili olduğu ileri sürülmektedir [126]. Ayrıca azalan plazma testosteron düzeyinin, kardiyovasküler bozuklukların görülme sıklığını ve buna bağlı ölüm riskini artırdığı bilinmektedir [127]. Testosteron hormonu, erkek seksüel fonksiyonlarının düzenlenmesi dışında adipoz doku akümüasyonu, glukoz ve lipit metabolizmasının düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır [128]. Adipositler, iltihaplanma ve kronik hastalıklardan sorumlu adipokinlerin birincil kaynağıdır. Testosteron hormonunun TNF α , IL-1 β ve IL-6 gibi çeşitli adipositokinlerin ekspresyonu üzerine inhibitör etkili olduğu bilinmektedir [128]. Hipogonadal erkeklerde testosteron tedavisinin inflamatuvar parametreler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, testosteron uygulaması

yapılan grupta serum TNF α ve IL-1 β düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir [129]. Avustralya'da yetişkin obez (VKİ>30 kg/m²) bireylerde yapılan bir çalışmada, 18 hafta boyunca testosteron tedavisi alan bireylerde plasebo grubuna kıyasla karaciğer yağlanması azaldığı ve insülin duyarlılığının arttığı gösterilmiştir [130].

Klinik çalışmalar, normal VKİ'e sahip erkeklerde düşük total testosteron düzeyinin metabolik sendrom habercisi olduğunu göstermişlerdir [131, 132]. Diyabetik olmayan yaşlı erkeklerde yapılan diğer bir çalışmada, düşük serum testosteron düzeyinin obeziteden bağımsız olarak insülin direnci ile ilişkili olduğu saptanmıştır [133]. Finlandiya'da yapılan 1896 kişinin katıldığı bir çalışmada diyabetik olmayan metabolik sendromlu orta yaşlı hastalardaki serum SHBG, serbest ve total testosteron düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir [134]. Metabolik sendromlu genç erişkin erkeklerde gonadal fonksiyonların incelendiği çalışmada; hiperinsülinemi sonucunda testosteron ve SHBG düzeyinin azaldığı gösterilmiştir [16]. Yaşlı erkeklerdeki düşük testosteron düzeyi ile metabolik sendromun ilişkisinin incelendiği bir çalışmada; azalan testosteron seviyesinin artmış bel çevresi, HOMA-IR indeks, serum CRP, trigliserit ve insülin düzeyiyle ilişkili olduğu saptanmıştır [17]. Diğer bir klinik çalışmada orta yaşlı erkeklerde, inflamasyon ve testosteronun metabolik sendrom ile ilişkisi incelenmiştir. Sağlıklı bireylere kıyasla metabolik sendromlu bireylerin plazma glukoz, serum trigliserit ve CRP düzeyinin arttığı, serum total testosteron düzeyinin ise azaldığı saptanmıştır. Araştırmacılar düşük testosteron ve yüksek CRP düzeyini metabolik sendromun bağımsız iki belirteci olduğunu ileri sürmüşlerdir [14]. Metabolik sendromlu hipogonadal yetişkin bireylerde yapılan klinik bir çalışmada, testosteron tedavisinin serum insülin ve inflamatuvar belirteçlerden IL-1 β , TNF α ve CRP düzeyini azalttığı saptanmıştır [135].

Araştırmalarda, azalan plazma testosteron düzeyinin; metabolik sendromda görülen hiperglisemi, dislipidemi, artmış insülin direnci ve inflamasyon gibi metabolik bozukluklarla birlikte seyrettiği belirtilmiştir [15]. Metabolik sendromun neden olduğu testiküler histopatolojik değişiklikler ve sperm parametrelerinin bozulması gibi bir takım erkek reproduktif bozukluk infertiliteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [102]. Ancak, metabolik sendrom ve düşük plazma testosteron

seviyesinin altında yatan moleküler mekanizmalar ve bunların infertiliteyle ilişkisi hala tam anlamıyla aydınlatılamamıştır.

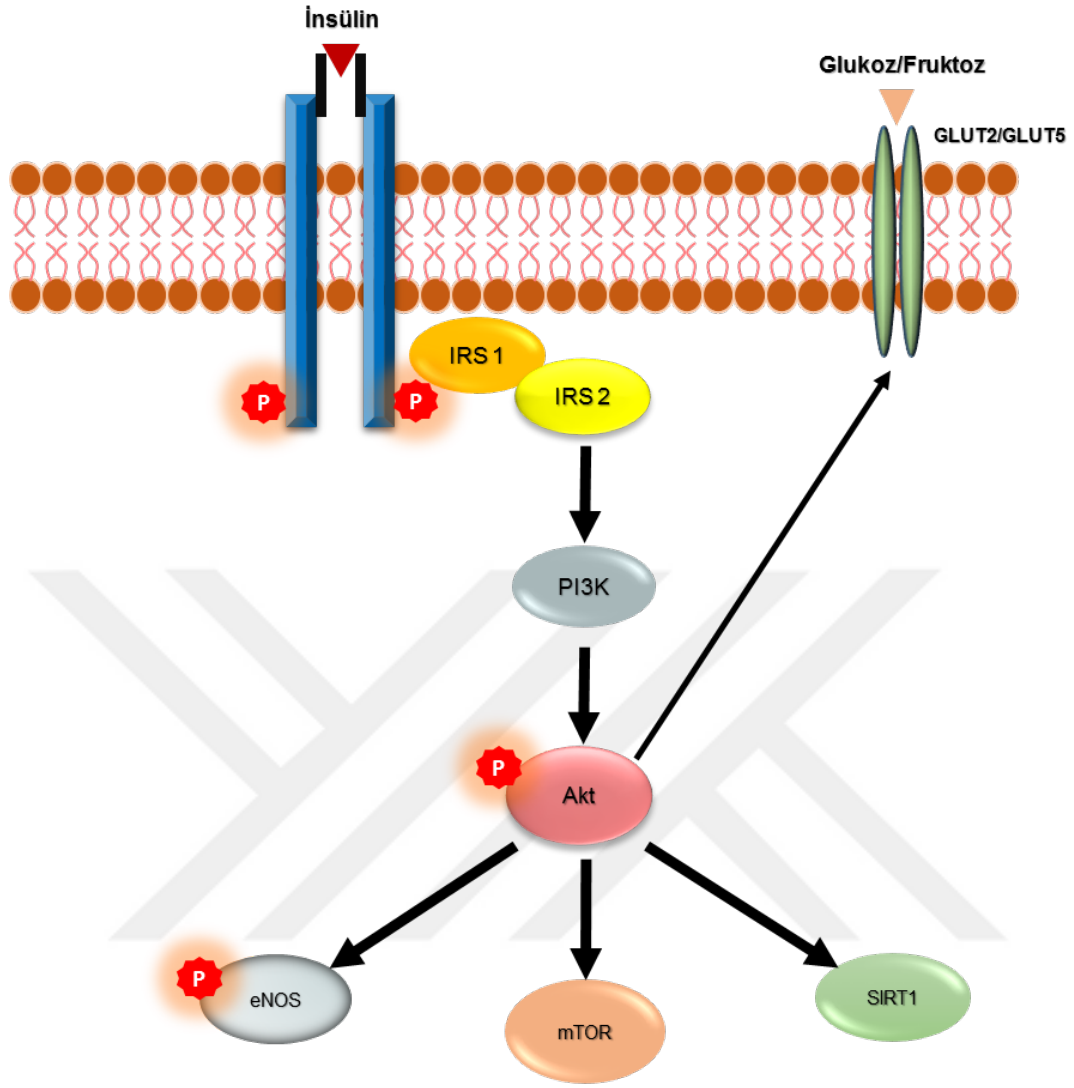
2.4. İnsülin Sinyal Yolağı ve Reprodüktif Sistem

İnsülin pankreastaki Langerhans adacıklarının β -hücreleri tarafından salgılanan, 6000 dalton molekül ağırlıklı polipeptid yapıda bir hormondur. Birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlı iki aminoasit zincirinden oluşmaktadır. Yapısında yaklaşık bir milyon Langerhans adacığı bulunduran sağlıklı bir insan pankreası 8-10 mg insülin içermektedir. Langerhans adacıkları birbirinden farklı dört tip hücreden oluşmaktadır. Adacıkların %50'sini oluşturan β hücreler insülin, α hücreler (% 35–40) glukagon ve δ hücreler (% 10-15) ise somatostatin üretiminden sorumludur [136, 137]. İnsülin pankreastaki β hücrelerde hidrofobik pre-proinsülin formda üretilir ve granüler endoplazmik retikulum üzerinden golgi kompleksine gönderilerek sentezlenir. Ca^{2+} bağımlı endopeptidaz enzimi, pre-proinsülinin insüline dönüşümünden sorumlu enzimidir [138].

Langerhans adacıkları hem kolinerjik hem de adrenerjik sinirler tarafından uyarılabilirler. İnsülin salgılanmasını muskarinik reseptör 3 ve β_2 reseptör agonistleri artırırken, α_2 adrenerjik reseptör uyarıcıları azaltmaktadır [139]. Kanda artan glukoz ve aminoasit düzeyine cevap olarak insülin sekresyonunu uyarılır. Ayrıca, insülin sekresyonunu cinsiyet hormonları, büyüme hormonu, glukagon, gastrointestinal hormonlar (sekretin, gastrin, kolestokin) ve glukokortikoidlerin artırabileceği, somatostatin ve adrenalinin baskılayabileceği bilinmektedir [140-142]. Hücre zarında bulunan ve tirozin kinaz yapısında olan insülin reseptörü α ve β alt ünitelerinden oluşmaktadır. Ekstraselüler α alt ünitesi uyarıyı transmembran β alt ünitesine iletir. Hücre içinde bulunan β alt birimi tirozin kinaz aktivasyonu sonucu IRS-1 ve IRS-2 üzerinden hücresel yanıtın ortaya çıkabilmesi için PI3K uyarılır. Ancak, β alt ünitesinin IRS-1 fosforilasyonu serin rezidüleri üzerinden gerçekleşirse, insülin sinyal yolağı baskılanır [143, 144]. Uyarılan PI3K, fosfoinozitol difosfatın (PIP2) fosfoinozitol trifosfata (PIP3) dönüşümünü sağlar. PIP3, Akt'i fosforilleyerek aktif hale dönüştürür [145]. Akt hücre sağ kalımı, büyüme faktörleri düzenlenmesi, hepatik lipid ve glukoz metabolizması gibi çeşitli hücresel süreçlerde rol oynayan anahtar bir proteindir [146]. İnsülin sinyal

yolağında PI3K aracılığıyla uyarılan Akt, doku içerisine glukoz internalizasyonunun sağlanması GLUT tarafından düzenlenir. IRS-1 ve IRS-2 reseptör aracılı tirozin fosforilasyonu sonucunda, PI3K gibi sinyal moleküllerini harekete geçiren insülin, glukozun hücre içine alınmasını tetikler. Karaciğer dokusunda glukoz ve diğer monosakkaritlerin bu internalizasyonunda GLUT2 ve GLUT5 sorumludur [147].

Birçok araştırma insülin tarafından uyarılan PI3K/Akt yolağının, eNOS'u aktive ettiğini, ayrıca insülin direnci ile azalan eNOS ekspresyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [148]. İnsan endotel hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmalar insülin uygulaması sonrası eNOS aktivasyonu gerçekleştiği, ayrıca artmış nitrik oksit düzeyinin PI3K ve Akt aracılığıyla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, insülin uygulanmış vektör transfekte edilerek IRS-1 ekspresyonu uyarılmış hücrelerde, insülin duyarlılığı değişmediği fakat nitrik oksit düzeyinin arttığı saptanmıştır [43, 149]. Diğer bir çalışmada, obez farelerin aortalarında insülin sinyal yolağı proteinleri ve insülin ile uyarılan vasküler gevşeme yanıtı incelenmiştir. Fare aortalarında insülin kaynaklı oluşan Akt ve eNOS aktivasyonunun yanı sıra aort gevşeme yanıtının azaldığı tespit edilmiştir [150]. İnsülin sinyal yolağının vasküler dokudaki iletimi Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Vasküler insülin sinyal iletim sistemi

Siyah oklar sinyal yolağı aktivasyonunu göstermektedir.

İnsan testisinde [151] ve sıçan testiküler endotelyal, Sertoli, Leydig ve peritübüler miyoid hücrelerinde IRS-1 ve IRS-2 protein ekspresyonlarının varlığı gösterilmiştir [152]. Pitetti ve arkadaşlarının yaptığı in vivo bir çalışmada, IR ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörünün (IGF-1R) Sertoli hücre sayı ve büyüklüğünü düzenlemede sinerjistik çalıştıkları gösterilmiştir [40]. İnsülin sinyal kaskadını oluşturan bütün proteinler gonadların gelişmesi ve dolayısıyla cinsiyet farklılaşmasının oluşması için son derece önemlidir [40, 41]. Ibberson ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada testiste GLUT-8'in başlıca glukoz taşıyıcısı olduğu ileri sürülse de [153], Kokk ve arkadaşları GLUT-2'nin testiküler

hücre tiplerinde bol miktarda eksprese edildiğini göstermiştir [152]. Günümüzde GLUT'ların testis üzerindeki etkileri tam anlamıyla çözülememiş olup, çalışmalar devam etmektedir. IRS-2 geni silinmiş farelerin insülin sinyal yolağı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada kontrol ile kıyaslandığında, testis IRS-1, IRS-3 ve IRS-4 gen ekspresyonlarında değişimin olmadığı, IGF reseptör ekspresyonu ve p-Akt düzeylerinde anlamlı bir artışın olduğu saptanmıştır. Ayrıca, IRS-2 geni silinmiş 10-12 haftalık farelerin testis ağırlıkları ve büyüklüklerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Ancak, azalmış testis boyutuna rağmen serum testosteron düzeyinin değişmediği gösterilmiştir. Ek olarak, IRS-2 gen eksikliği olan yeni doğan farelerde de testis ağırlığında anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar IRS-2 geni silinmiş farelerde kontrole kıyasla, Sertoli ve spermatosit hücre miktarlarında anlamlı bir düşüş gözlemlerken Leydig hücre sayısında herhangi bir değişim görülmediğini bildirmişlerdir. Kontrol ile kıyaslandığında IRS-2 geni silinmiş farelerin testis seminifer epitel boyu, çapı ve çevre uzunluğunun anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, IRS-1 geni silinmiş hayvanların testis ağırlıkları ve büyüklükleri üzerinde belirgin bir değişim oluşmadığını bildirmişlerdir [42]. IRS-2 knockout hayvanlarda testiküler dokunun incelendiği çalışmada, IRS-2 geni baskılanan fare spermatogoniumlarında küçük hiperkromatik çekirdeklerin yanı sıra polinükleer ve nükleer olmayan yapı varyasyonlarının olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, IRS-2 baskılanan hayvanlarda testiküler hücre proliferasyon miktarının azaldığı, spermatogonia, çekirdeksiz tübüler hücre ve germinal hücre dizilerinde aktif caspase3 düzeyinin arttığı bildirilmiştir [154]. Kısmi IGF-1 eksikliğinin fare testisi üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; IGF-1 düzeyleri baskılanan farelerde spermatogenezde azalma, anormal spermatidlerin varlığı, peritübüler kalınlaşma, germ hücre hattı ve germinal epitel kaybı ile karakterize testiküler hasarın olduğu gösterilmiştir [155]. Diğer çalışmada, bir spermatogenez döngüsü (45 gün) boyunca, toksik bisfenol A gavaj uygulanmasının sıçan testis insülin sinyal yolağı ve glukoz homeostazı üzerine etkileri incelenmiştir. Bisfenol verilerek plazma glukoz ve insülin artışıyla hiperglisemik yapılan hayvanlarda testiküler oksidatif stres artışına, plazma testosteron düzeyindeki azalışın eşlik ettiği gösterilmiştir. Hiperglisemik hayvanlarda testiküler steroidojenik enzimlerden 3 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (HSD), 17 β -HSD ve Steroidojenik akut regülatör protein (StAR) aktivitelerinin baskılandığı bildirilmiştir. Ayrıca, plazma testosteron düzeyi azalan hayvanlarda

testis insülin, IR, IRS-1, IRS-2 ve PI3K gibi insülin sinyal yolağı proteinlerin baskılanmasına, GLUT2 ve GLUT8 düzeylerindeki azalmanın eşlik ettiği gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak uygulanan 17- β -östradiolün plazma testosteron düzeyini baskılayarak benzer etkilere neden olduğu ayrıca, testiküler insülin, IR, IRS-1, IRS-2 ve PI3K'nin yanı sıra GLUT2 ve GLUT8'i baskıladığı bildirilmiştir [156, 157].

Testisler dahil birçok dokuda bulunan nitrik oksit sentazlarından biri olan eNOS'un infertilite, spermatogenez ve sperm olgunlaşmasında fonksiyonel rol oynadığı bilinmektedir [47, 158]. Yapılan çalışmalarda eNOS'un seminifer tübül ve spermatozoonun baş ve orta parça bölgelerinde bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, spermatogenezin tüm aşamalarında insan testis Leydig, Sertoli ve endotel hücrelerinde eksprese edildiği bildirilmiştir [45]. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, eNOS ekspresyonunun germ hücrelerinde eksprese edildiği gösterilmiştir [46]. Lee ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı bir çalışmada, eNOS'un KTB proteinlerinden N-cadherin ile yapısal olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir [49]. Sprague-Dawley sıçanlarda eNOS ve testiküler apoptozisin incelendiğini bir çalışmada, deltametrin uygulanan hayvanlarda kontrole kıyasla apoptotik hücre sayısının artışı; sperm üretiminde ve eNOS düzeyinde azalmanın eşlik ettiği bildirilmiştir. Ek olarak, spesifik eNOS agonist uygulaması sonucunda apoptotik hücre sayısında belirgin bir azalma ve sperm üretiminde iyileşme sağlandığı gösterilmiştir [159]. Diğer bir çalışmada, nitro-L-arginin metilesteri (L-NAME) uygulaması ile hipertansif yapılmış sıçanlarda kontrole kıyasla serum total testosteron, testiküler StAR ve eNOS protein düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca hipertansif sıçanlarda; sperm hareketliliği ve yoğunluğunda anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştır [160]. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, metotreksat kaynaklı testis toksikasyonu sonucu artan p53, malondialdehit (MDA), TNF α ve IL-1 β düzeylerinin, nikorandil ön tedavisi ile anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, nikorandil uygulamasıyla testiküler eNOS düzeyi artışı ile aktive olan anti-apoptotik, antioksidan ve anti-inflamatuvar parametreler arasında ilişki olabileceği ileri sürülmüştür [161].

Araştırmalar, mTOR'un hücre proliferasyonu, büyümesi, farklılaşması ve apoptozisini düzenlenmesinde rol aldığını göstermektedir [162, 163]. mTOR

memeli doku ve hücrelerinde besinler, hücresel enerji durumu (cellular energy status), insülin ve PI3K-Akt yolağı tarafından uyarılmaktadır. Son yıllardaki çalışmalar, PI3K ve Akt aracılı mTOR'un spermatogenez, testiküler endokrin fonksiyonların ve KTB'nin düzenlenmesi gibi erkek reproduktif sisteminin birçok aşamasında yer aldığı gösterilmiştir [50, 51]. Spermatogenez ve mTOR ilişkisinin incelendiği bir çalışmada rapamisin uygulaması ile mTOR aktivitesi baskılanmış Sprague-Dawley sıçanlarda, kontrole kıyasla spermatogonya proliferasyonunun inhibe edilerek sperm sayısının azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, aynı çalışmada spesifik inhibitör uygulanarak spermatogonial hücrelerde PI3K inhibisyonu yapılmasının, p-AKT düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığı saptanmıştır [164]. Çalışmalar, mTORC1 sinyal yolağının KTB proteinlerinden occludin ve claudin11 düzenlenmesinde görevli olduğunu göstermiştir [54, 55]. mTOR sinyal yolağı bileşenlerinin KTB proteinleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, PI3K inhibisyonu yapılmış Sertoli hücrelerde baskılanan occludin ve claudin düzeylerinin; azalmış Akt aktivasyonu aracılığıyla olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca çalışmada KTB yeniden yapılandırılmasında mTOR sinyal yolağının rolü olduğu saptanmıştır [54].

NAD⁺ bağımlı deasetilaz ailesinin bir üyesi olan Sirtuin (SIRT)1, Akt'nin tekrar aktivasyonu için gerekli deasetilasyonunu sağlayarak vücut homeostazı için önemli rol oynamaktadır [165]. SIRT1 enziminin glukoneogenez, glikoliz, pankreasta insülin sekresyonunu artırması, adipogenezin baskılanması ve lipit oksidasyonunu artırması gibi metabolik etkilerinin yanı sıra spermatogenez ve hücresel stres cevapların düzenlenmesinde kritik rol oynadığı bilinmektedir [166-169]. Erkek infertilitesi üzerine SIRT1'in olası etkisinin incelendiği bir çalışmada, SIRT1 knockout farelerde testis p53 aktivasyonun arttığı, indüklenen apoptozis sonucu germ hücre kaybı olduğu gösterilmiştir [170]. Ek olarak, SIRT1 eksikliği olan farelerde mitokondrial disfonksiyon ve azalan testiküler biyoenerji kapasitesi nedeniyle spermatojenik sürecin baskılandığı bildirilmiştir [171]. SIRT1 knockout farelerde yapılan diğer çalışmada, sperm sayısının azaldığı ve spermatozoaların morfolojisinin değiştiği gösterilmiştir [172].

Yapılan çalışmalarda testis gelişimi, hücresel stres cevapların düzenlenmesi, mikrosirkülasyon ve spermatogenezin sürdürülebilmesi için testiküler insülin sinyal

yolağının önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca testiküler insülin sinyal yolağı, KTB bütünlüğünün korunmasında görev almaktadır. Bu sebeple diyabet, obezite ve metabolik sendromda görülebilen infertilite mekanizmaların anlaşılabilmesi için testiküler insülin sinyal yolağının daha fazla araştırılması gerekmektedir.

2.5. Fruktoz

Şeker, vücuda alındığında ağızda lezzetli ve hoş bir tadın oluşmasını sağlayan suda çözünebilen karbonhidratlar için kullanılan genel bir isimdir. Evlerde yiyecek hazırlamada en sık kullanılan toz şeker sukrozdur [173]. Temel olarak şeker kamışı veya pancarından elde edilen sukroz, yapısında birer molekül fruktoz ve glukozun bulunduğu disakkarittir. Glukoz ve fruktozun yanı sıra galaktoz, laktoz ve maltoz gibi sakkaritlerde şekerdir. Ancak bu moleküllerin fruktozdan daha az tadlandırıcı güce sahip olmaları, stabilite sorunları ve yüksek üretim maliyetleri sebebiyle endüstriyel kullanımda genelde tercih edilmezler [1]. Son yıllarda fruktoz insanların diyetinin ayrılmaz bir parçası halinde gelmiştir. Bal ve meyvelerin yapısında doğal olarak sentezlenen altı karbonlu monosakkarit olan fruktoz; havuç, soğan, tatlı patates gibi sebzelerde az miktarda bulunabilir [174].

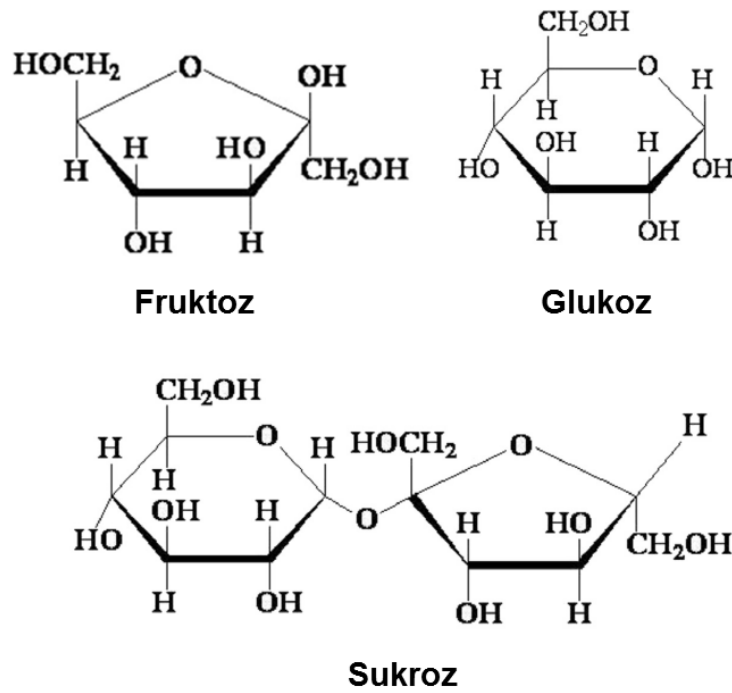
Tarihsel olarak incelendiğinde çevresel faktörlere göre kısmen değişmiş olmasına karşın geleneksel diyetlerin çoğunun et ve tahıl ağırlıklı olduğu görülmektedir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da tahıl ağırlıklı beslenmede ana karbonhidrat kaynağı olarak nişasta kullanıldığı bilinmektedir. Ancak, sanayi devrimiyle birlikte büyüyen şeker üretim kapasitesi, 18. ve 19. yüzyıllarda İngiltere'de şeker tüketimini %1500 oranında belirgin bir şekilde artırmıştır [79]. Hatta araştırmalar günümüzde günlük enerji ihtiyacımızın kaynağı olarak şeker tüketiminin %10-20 oranında olduğunu göstermektedir; ABD'de bu oran %16 olarak saptanmıştır [1, 175]. ABD'deki bireylerin %15'i günlük enerji ihtiyaçlarının %25'ini şekerden sağladığı bildirilmiştir [175]. Ayrıca, ABD'de yıllık kişi başı tüketilen 30-35 kg şekerin %50'den fazlası yüksek fruktoz içeren mısır şurubu olduğu bildirilmiştir [176, 177]. Araştırma sonuçları incelendiğinde, kişi başına düşen fruktoz tüketiminin son iki yüzyılda yüz kat arttığı görülmektedir [178]. Ülkemizin de bulunduğu 43 ülkede yapılan kapsamlı bir çalışmada, Türkiye'de kişi başına yıllık şeker tüketiminin 27,84 kg olduğu bildirilmiştir [179]. Ayrıca, kentleşme ve sanayileşmeyle birlikte artan nüfus

için ucuz enerji kaynağı görülmesi ve kıtalararası ticaretin gelişmesi; şeker tüketimini artıran en temel sebepler olarak görülmektedir [1].

Glukoz ve fruktoz karışımları nişastadan hazırlanır ve çeşitli endüstriyel gıda ürünlerinde tatlandırıcı olarak kullanılır. Ancak Kuzey Amerika'da bu ürünler çoğunlukla mısırdan üretilir ve yüksek fruktozlu mısır şurubu olarak bilinirler [180]. Günümüzde fruktoz, gazlı içecekler, hazır tatlı yiyecekler gibi birçok üründe kullanılan yüksek fruktoz içeren mısır şurubu sebebiyle sıkça tüketilmektedir. Suda kolay çözünebilen fruktoz; 1960'lı yıllarda gıda endüstrisinde yüksek fruktoz içeren mısır şurubuna eklenmeye başlanmıştır. O tarihten sonra rafine şeker olarak sukroz yerine, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu kullanılmaya başlanmıştır [181]. Fruktoz beyaz katı görünümüne sahipken; mısır şurubu, içerisindeki bileşimlerin oranına göre değişen sarı renkte ve yoğunlukta bir sıvıdır. Mısır şurubu yapısında %42 veya %55 oranında fruktoz içermektedir [174]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tokluk hissi oluşturmadağı için günlük kalori alımının artmasına neden olabilecek sıvı içerisinde fruktoz alımının; dislipidemi, obezite, hipertansiyon, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, insülin direnci, tip 2 diyabet ve metabolik sendrom gelişimiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [3].

2.5.1. Fruktozun kimyasal yapısı

Fruktoz altı karbonlu keto-heksozdur ve aldo-heksoz olan glukoz ile aynı kimyasal formüle ($C_6H_{12}O_6$) sahiptir. Fruktozun karbon zincirinin 2. pozisyonunda bir keton grubuna sahip olması, glukozun ise ilk karbon grubunda aldehit taşıması bakımından birbirlerinden ayrılırlar. Kristalize fruktozun 5'li halkalı yapıya sahip olması yarı asetal ve iç hidrojen bağlarından kaynaklanmaktadır. Fruktoz, α -glukoz ile birlikte sukrozun yapısına katılırlar [1, 182]. Fruktoz, glukoz ve sukrozun kimyasal yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

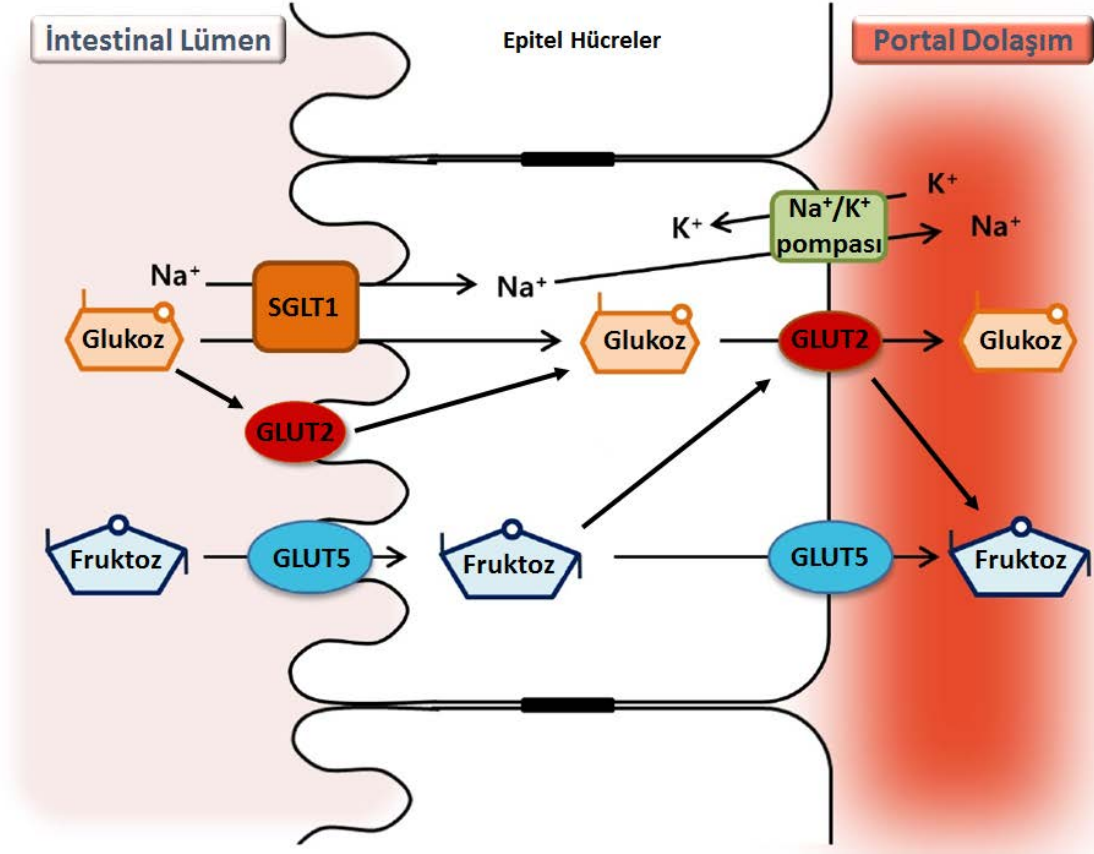


Şekil 2.2. Fruktoz, glukoz ve sukrozun kimyasal yapısı

2.5.2. Fruktozun absorpsiyon ve metabolizması

Memelilerdeki fruktoz absorpsiyonu ince bağırsaktaki GLUT5 ile gerçekleşmektedir. Bu emilim sınırlı absorpsiyon kapasitesine sahip GLUT5'in aktivitesine bağlı olup, insülininden bağımsız bir şekilde gerçekleşmektedir. Glukoz ise barsak lümeninden sodyum bağımlı glukoz taşıyıcısı 1 (SGLT1) aracılığıyla absorbe olurken, portal dolaşıma GLUT2 vasıtasıyla aktarılmaktadır [183]. Karaciğer fruktoz metabolizması için birincil organ olarak kabul edilse de, fruktozun bir kısmı ince bağırsak tarafından glukoz ve laktata metabolize edilebilir. Bu sebeple fruktozun %80-90'ı karaciğere yapısı bozulmadan iletilebilir [184, 185]. Karaciğere gelen fruktoz ilk geçiş etkisi ile yaklaşık %80 oranında metabolize olmaktadır [60]. Son yıllarda Jang ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışma ile fruktoz metabolizmasının karaciğer merkezli olduğu görüşü, alınan miktara göre birincil fruktoz metabolizma yerinin ince barsak olabileceğine dair kanıtlarla değişmiştir. Fruktoz metabolizmasının ^{13}C izotop izleme modeliyle incelendiği bu çalışmada alınan düşük doz fruktoz (<0,5g/kg) enterositler tarafından metabolize edilirken (%90 oranında), yüksek doz fruktozun ($\geq 1\text{g/kg}$) büyük oranda karaciğere

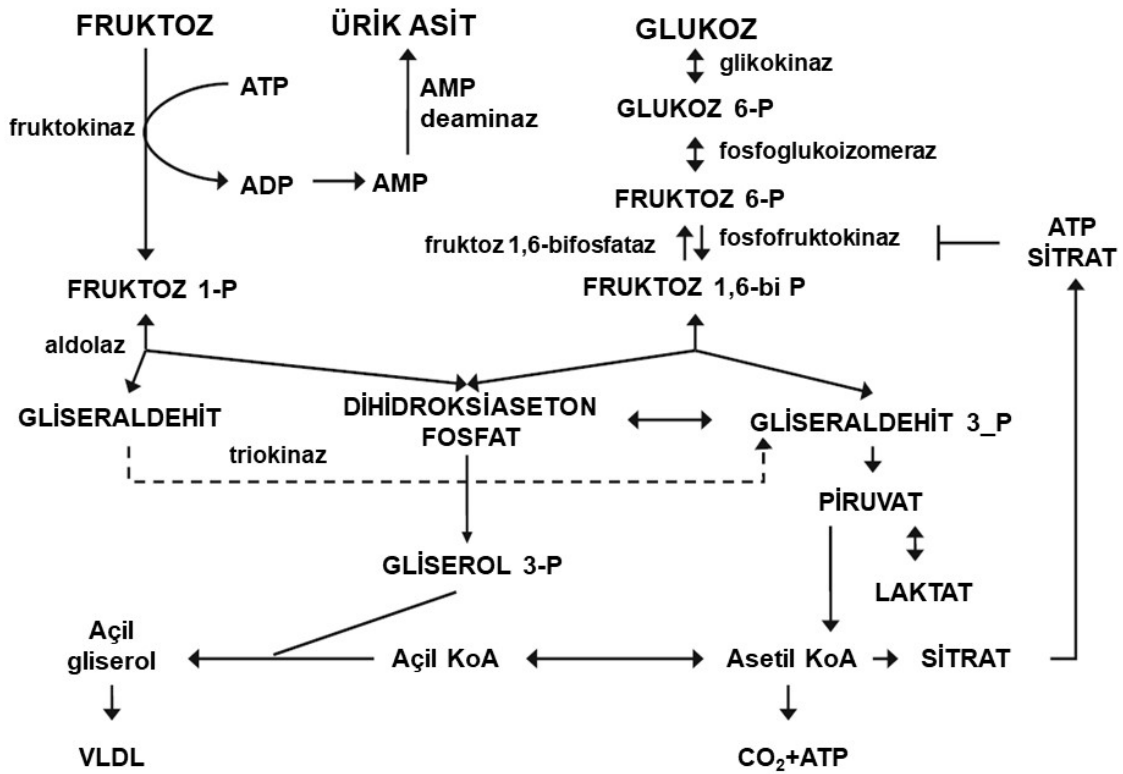
taşındığı bildirilmiştir [186]. Fruktozun intestinal lümeninden absorpsiyonu Şekil 2.3'de şematize edilmiştir [185].



Şekil 2.3. Fruktoz absorpsiyonu

Fruktoz ve glukozun moleküler yapılarındaki benzerliğe rağmen, hepatik metabolizmaları büyük oranda farklıdır. Glukozun metabolizması glukokinaz enzimi ile glukoz-6-fosfata fosforillenme ile başlar. Ardınca oluşan fruktoz-6-fosfat ve sonrasında fruktoz 1,6-bifosfata dönüştürülür. Fruktoz ise karaciğerdeki üç enzim ile tamamen metabolize olur. Bu üç enzimin ilk ikisi sadece fruktoza özgü olup, glukolizde görev almaz. Bu enzimlerin ilki olan Fruktokinaz fruktozun fruktoz-1-P'e fosforilasyonunu katalize eder [3]. Aldolaz ise oluşan ürünü dihidroksiaseton fosfat (DHAP) ve gliseraldehite (GAP) parçalamaktadır. Ayrıca bu indirgenme aşaması fruktolizis olarak adlandırılmaktadır. Hatta DHAP ve GAP, Krebs döngüsü ve glukoneogenezi besleyen piruvat ve asetil-CoA oluşumuna yol açan glukolizin son aşamasında da yer almaktadırlar. Üçüncü enzim olan triokinaz ise GAP'ı

lipoproteinlerin yapı taşlarından biri olan gliserol-3P'e dönüştürmektedir. Glukoliz'de kısıtlayıcı faktörlerden biri insülin tarafından düzenlenen ATP ve sitratın, fosfofruktokinaz enzimini baskılamasıdır. Ancak bu sorun insülinin bağımsız olarak hareket eden Fruktokinaz ve aldolaz enzimleri için geçerli değildir. Bunun sonucu olarak hücresel enerji ihtiyacına bakılmaksızın karaciğere gelen fruktozun büyük çoğunluğu kontrolsüz bir şekilde trioz-fosfatlara parçalanmaktadır. Oluşan bu triozlar uzun zincirli yağ asitlerine karbon kaynağı olarak VLDL ve trigliseride dönüştürülebileceği gibi glukoz, glikojen, piruvat ve laktat sentezi gerçekleştirebilirler. Hatta yağ asidi reesterifikasyonunu uyardığı düşünülen fruktozun, hepatik lipit oksidasyonunu baskıladığı düşünülmektedir [1, 187]. Fruktoz metabolizması Şekil 2.4.'de şematize edilmiştir [187].



Şekil 2.4. Fruktoz metabolizması

2.5.3. Monosakkaritler ve disakkaritler

Dünya genelinde artan obezite ile fruktoz içeren gıda tüketimindeki artış arasında paralellik olduğu saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar fruktozun diğer

monosakkaritlere göre hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom ve diyabetin epidemiyolojisinde kilit bir rol aldığı görülmektedir [188-190]. Araştırmalar fruktoz ve sukrozca zengin diyetlerin bozulmuş glukoz toleransına ve insülin direncine neden olduğunu göstermektedir [191]. Ayrıca, glukoz tüketiminin fruktozla beslenmeye kıyasla bozulmuş glukoz toleransı ve insülin direnci üzerine etkisinin daha zayıf olduğu bilinmektedir [189].

Yetişkin fareler on hafta süreyle içme suyu içinde fruktoz veya sukroz ile beslendiğinde, kontrole kıyasla fruktoz tüketen grupta vücut adipoz miktarı ve karaciğer yağlanması arttı; sukroz tüketen hayvanlarda ise bu değerlerde anlamlı bir değişimin olmadığı gösterilmiştir [192]. İki hafta boyunca içme suyu içinde %23 fruktoz, glukoz veya sukroz içeren diyetle beslenen sıçanların serum trigliserit ve kolesterol düzeyleri kontrole kıyasla arttı; en fazla artışın fruktoz grubunda olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, kontrole kıyasla fruktoz tüketen hayvanların serum insülin düzeyi artarken; diğer gruptaki hayvanlarda serum insülin değerlerinde değişim olmadığı bildirilmiştir [193].

Sağlıklı bireylerde 6 hafta süreyle enerji ihtiyacının %17'sinin fruktoz veya glukoz tüketimiyle karşılandığı bir çalışmada; fruktoz tüketen erkeklerin plazma trigliserit düzeylerinin glukoz tüketen bireylere kıyasla daha yüksek olduğu, ancak kadınlarda bu değişikliğin olmadığı bildirilmiştir [194]. Obezlerde fruktoz ve glukoz ile tatlandırılmış içecek tüketiminin hormon ve metabolik parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; fruktoz tüketen hastalardaki plazma insülin ve leptin düzeylerinin azalması ve trigliserit düzeyinin artışının glukoz tüketen hastalara kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir [195]. Sağlıklı bireyler üzerindeki fruktoz ve glukozun biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelendiği klinik bir çalışmada; glukoz tüketen bireylerde artan plazma glukoz düzeyine insülinin eşlik ettiği, ancak fruktoz tüketimi sonucu kanda insülin düzeyinin değişmediği gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen bireylerdeki plazma trigliserit düzeyinin glukoz tüketen gruba göre daha yüksek olduğu saptanmıştır [196]. Fruktoz tüketimiyle *de novo* lipogenez arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, obez bireyler (VKİ: 25-35 kg/m²) 10 hafta boyunca günlük enerji gereksinimlerinin %25'ini glukoz veya fruktoz ile tatlandırılmış içeceklerle karşılamışlardır. Fruktoz tüketen bireylerde visceral adipoz hacmi, *de novo* lipogenez, tokluk trigliserit, açlık

apolipoprotein (apo)B, LDL ve kolesterol düzeyleri anlamlı bir şekilde artarken glukoz tüketen hastalarda bu değerlerde bir değişim gözlenmemiştir. Ayrıca, sadece fruktoz tüketen bireylerde açlık plazma insülin ve glukoz düzeyleri artarken, insülin duyarlılığının azaldığı saptanmıştır [95]. Ayrıca, obez insanların fruktoz tüketimi sonucu karaciğerde yağ asitlerinin sentezinin arttığı ve yağ asidi oksidasyonunun baskılanarak de novo lipogeneze neden olduğunu ileri sürülmüştür [197, 198]. Yedi hafta boyunca normal diyetlerine ek olarak fruktoz, sukroz veya glukoz (80 g/gün) içeren içecek tüketen sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada; kontrol ile kıyasla fruktoz ve sukroz ile tatlandırılmış içecek alan bireylerde karaciğerde yağ asidi sentezinin arttığı, glukoz tüketen grupta ise anlamlı bir değişikliğin olmadığı gösterilmiştir. İlginçtir ki, yedi haftalık bu çalışmada metabolik sendromu parametreleri olan hipertrigliseridemi, hiperglisemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci gözlenmemesine karşın; fruktoz içeren içeceklerin bazal lipojenik kapasiteyi artırdığı bulunmuştur [199]. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında fruktoz tüketiminin olumsuz etkilerinin glukozla kıyasla daha fazla olduğu ortaya çıkmaktadır [173].

2.5.4. Fruktoz, insülin direnci ve metabolik sendrom

İnsülin direnci kavramı ilk kez 1936'da Himsworth tarafından tanımlanmıştır. Araştırmacı içme suyu içinde 30 gram glukoz verdiği diyabetik hastalarda, standart bir insülin dozu sonrasında tokluk kan glukoz düzeyinin düşme hızını ve derecesini karşılaştırmıştır. Bazı diyabetik hastalarda kan glukoz düzeyinin azaldığı tespit edilmiş olup, bu grup insüline duyarlı olarak adlandırılmıştır. Diğer grup diyabetik bireylerde ise, insülinin kan glukoz düzeyi artışını düşüremediği tespit edilmiştir ve bu gruba da insüline-duyarlı olmayanlar/insüline dirençliler şeklinde adlandırılma yapılmıştır. Ayrıca, Himsworth bu sonuçlar neticesinde insüline bağımlı iki farklı diyabet türü olabileceğini öne sürmüştür. İnsülin duyarlı grup incelendiğinde, diyabetin vücuttaki insülin eksikliğinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. İnsülin duyarlı olmayan grupta gelişen diyabetin ise; insülin eksikliğinden değil, vücudu insüline duyarsız hale getiren bilinmeyen bir faktörden kaynaklandığı ileri sürülmüştür [200]. Hepatik insülin direnci mekanizmalarının incelendiği çalışmalarda; karaciğerde diaçilgliserol (DAG) düzeyi artışının, IRS-1 serin fosforilasyonunu artıran protein kinaz C'i aktive ettiği

bildirilmiştir. IRS-1 serin fosforilasyonunun, insülin sinyal yolağı IRS-2, PI3K ve Akt proteinlerini baskıladığı gösterilmiştir. Araştırmacılar, artmış DAG düzeyinin hepatik insülin direncinden sorumlu muhtemel mekanizmalardan biri olabileceği görüşünü savunmaktadırlar [201, 202]. Ek olarak, hepatik insülin direnci VLDL üretimini; lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek hipertrigliseridemiye artıran apoCIII indüksiyonuyla dolaylı olarak artırabilir [203]. Hipertrigliserideminin dokularda lipit akümülayonuna sebep olduğu ve bütün vücutta insülin duyarlılığını azaltabileceği ileri sürülmüştür [204]. Vücut, gelişen insülin direncini telafi etmek için artan insülin sekresyonuna ihtiyaç duymaktadır ve böylece açlık plazma insülin düzeyini artırmaktadır. Sıçanlara fruktozca (%66) zenginleştirilmiş diyetin iki hafta süreyle verilmesi sonucunda; hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemi gelişimi saptanmıştır. Bu çalışmayla Hwang ve arkadaşları fruktoz diyetiyle ilk kez insülin direnci oluştuğunu göstermişlerdir [205]. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda fruktoz tüketiminin lipid metabolizması ve hepatik insülin duyarlılığını etkilediği bilinmektedir [147].

Yüksek fruktoz tüketiminin karaciğer üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, içme suyu içerisinde yüksek fruktoz (%20) içeren diyet ile 8 hafta boyunca beslenen farelerin karaciğer ve vücut ağırlığının arttığı; ayrıca dislipidemi ve hiperinsülinemi sonucu insülin direnci geliştiği gösterilmiştir. Fruktoz tüketen farelerin karaciğer dokularındaki GLUT-4 ve PI3K protein düzeylerinin yanı sıra p-IRS-1/IRS-1 ve p-Akt/Akt oranlarının anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen hayvanların karaciğer IR protein düzeyinde kontrole kıyasla değişim gözlenmemiştir [206]. İçme suyu içinde 9 hafta süresince fruktoz (%60 oranında) tüketen Wistar sıçan karaciğer dokusunda, IRS-1 serin fosforilasyonunun arttığı ve insülin direnci geliştiği bildirilmiştir [29]. Yağlı karaciğer hastalığının insülin sinyal yolağı proteinleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, hepatik p53 aktivasyonunun IRS-2/PI3K/Akt sinyal yolağını baskılayarak insülin direnci oluşturduğu ileri sürülmüştür [207]. Laboratuvarımızda yüksek fruktozlu mısır şurubunun karaciğer fonksiyonları ve insülin direnci üzerine etkisinin incelendiği çalışmamızda; 12 hafta süresince içme suyu içinde yüksek fruktozlu mısır şurubu (%20 oranında) tüketen sıçanların karaciğer IRS-1, eNOS ve SIRT1 mRNA ve protein düzeylerinin azalmasına karaciğer yağlanması eşlik ettiği gösterilmiştir [208]. Laboratuvarımızda yapılan diğer bir çalışmada, 15 hafta

boyunca içme suyu içinde verilen %20 fruktozun sıçan karaciğerinde; doku ağırlığını ve trigliserit düzeyini artırdığını, IRS-1, p-AKT ve p-eNOS ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, kontrol ve fruktoz tüketen gruplar arasında Akt ve eNOS protein ve mRNA düzeyleri arasında anlamlı bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır [209]. Son yıllarda yaptığımız bir çalışmada 15 hafta süresince içme suyu içinde %20 fruktoz tüketen sıçanların hepatik *ir*, *irs-1* ve *irs-2* mRNA ekspresyonlarının yanı sıra IRS-1, IRS-2, p-Akt ve p-eNOS protein düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. Ek olarak, fruktoz diyetinin adipoz doku *irs-1*, *irs-2* ve *enos* mRNA düzeylerini baskıladığı saptanmıştır [56].

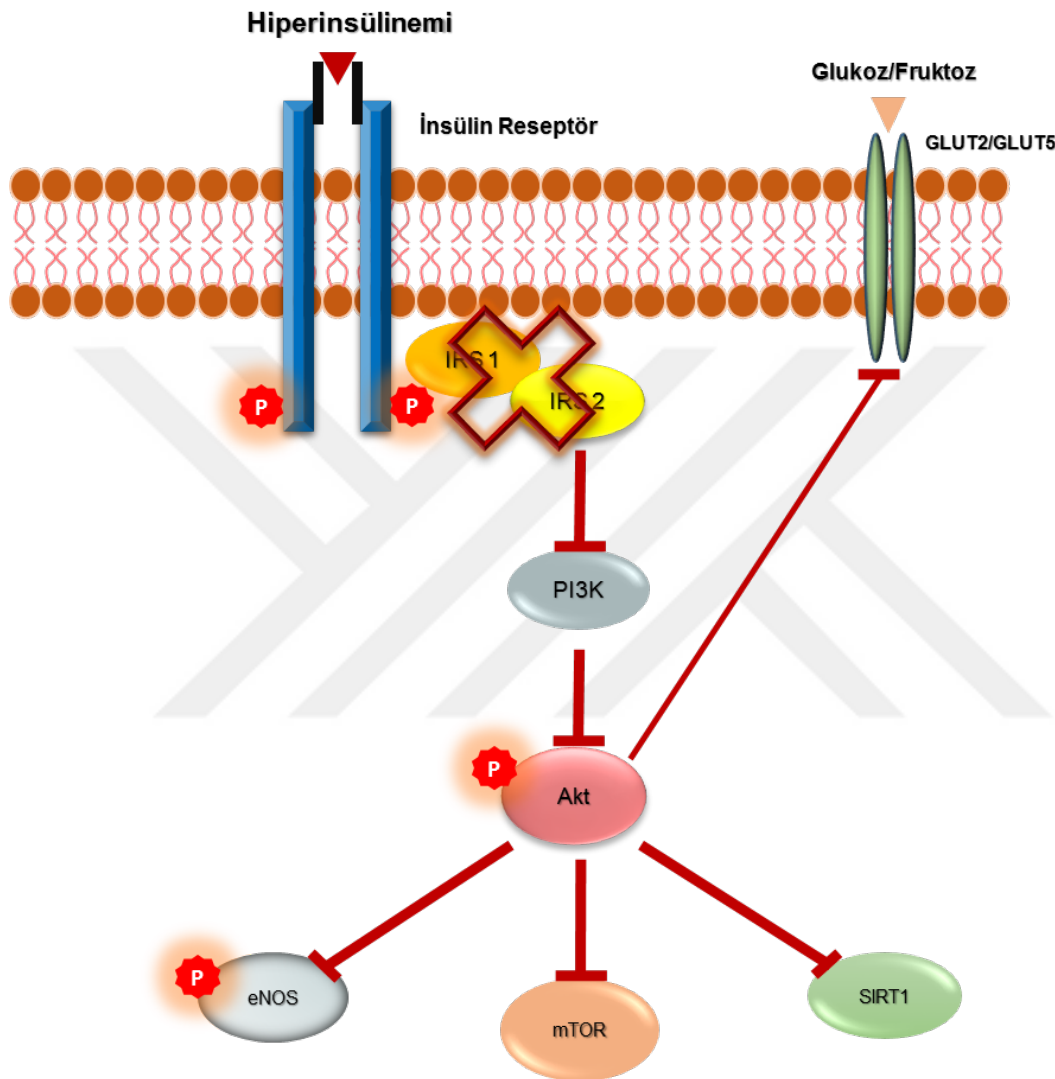
eNOS gen aktarımının etkilerinin incelendiği çalışmada, içme suyu içinde 5 hafta %10 fruktoz tüketimiyle hipertansif ve hiperinsülinemik olduğu gösterilen sıçanların aorta, karaciğer, böbrek ve kalp dokularında insülin sinyal yolağı proteinleri incelenmiştir. Hiperinsülinemik durumun IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt ve eNOS gibi insülin sinyal yolağının düzenlenmesinden sorumlu protein düzeylerini baskıladığı tespit edilmiştir. Ancak, eNOS gen enjeksiyonu sonrası baskılanan protein düzeylerinin arttığı ve hipertansiyon, hiperinsülinemi ve insülin direncinin azaldığı gösterilmiştir [210]. Fruktoz tüketiminin cinsiyet farkı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; 9 hafta süresince içme suyu içinde fruktoz (%10) verilmiş dişi ve erkek sıçanların kalp IRS-1 protein düzeyinin değişmediği gösterilmiştir. Aksine, erkek sıçanların kalp p-IRS-1^{Ser}/IRS-1 düzeyinin yükselmiş olduğu, dişi sıçanlarda ise kardiyak IRS-1 aktivasyonun azaldığı tespit edilmiştir [211]. Sekiz hafta boyunca yüksek fruktoz (%60) diyetiyle beslenen sıçanlarda; fruktoz tüketiminin aorta asetilkolin gevşeme yanıtını azaltarak, insülin direnci kaynaklı endotel fonksiyon bozukluğuna neden olduğu da gösterilmiştir [212]. Yüksek fruktozlu mısır şurubunun vasküler fonksiyon üzerine etkilerinin incelendiği önceki çalışmalarımızda, mısır şurubu tüketimi sonucu endotel disfonksiyonu ve vasküler insülin direnci geliştiği; aorta IRS-1 ve eNOS protein düzeylerinin yanı sıra *irs-1* ve *enos* mRNA ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir [213, 214]. Uzun süreli fruktoz diyetinin cinsiyete göre etkilerinin incelendiği çalışmamızda; 24 hafta boyunca %10 fruktoz içeren diyetle beslenen dişi sıçanların aorta IRS-2, eNOS ve SIRT1 mRNA ekspresyonlarının azaldığı, ayrıca erkek ve dişi sıçan aorta eNOS protein miktarlarının baskılandığı gösterilmiştir [215]. Yüksek fruktoz diyetinin renal insülin sinyal yolağı ve inflamatuvar belirteçleri üzerine etkilerini incelediğimiz

çalışmamızda; Wistar sıçanlar 15 hafta boyunca içme suyu içinde %20 fruktoz tükettirilmiştir. Fruktoz tüketen hayvanlarda renal inflamasyonun tetiklendiği; ayrıca *irs-1* mRNA ekspresyonunun azalmasına, IRS-1, Akt ve eNOS protein düzeylerinin baskılanmasının eşlik ettiği bildirilmiştir [57]. Fruktoz tüketiminin aorta üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; içme suyu içinde %30 fruktoz tüketen farelerde apoptozis ve inflamasyonun tetiklendiği, ayrıca aort PI3K, p-Akt ve Akt protein düzeylerinin baskılanarak ateroskleroz gelişen bildirilmiştir [216]. Farelere 8 hafta süre ile içme suyu içinde %20 fruktoz verilmesi sonrasında, serum endotelin 1 ve tromboksan (Tx)A₂ düzeyleri artışına eNOS ve PGI₂ azalmasının eşlik ettiği ve böylece damar endotel hücrelerinde fonksiyon bozukluğu olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar, insülin tarafından uyarılabilen nitrik oksit üretiminde bozukluk ortaya çıktığını ve böylece insülin duyarlılığının azaldığını ileri sürmüşlerdir [217]. Sekiz hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslenen Sprague-Dawley sıçanların aorta eNOS düzeyinde anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Ayrıca, insülin direnci oluşmuş sıçanların iskelet kaslarındaki IRS-1 ve p-AMPK düzeylerinin kontrole kıyasla daha az olması dikkat çekicidir [218]. On hafta boyunca %60 fruktoz diyetinin iskelet kas dokusu insülin sinyal yolağı proteinlerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, fruktoz tüketen Wistar rat iskelet kasında p-IRS-1^{Ser} düzeyinin arttığı ve p-IRS-1^{Tyr} seviyesinin değişmediği belirtilmiştir [219].

Dokuz hafta süreyle içme suyu içinde farklı oranlardaki fruktoz tüketiminin insülin duyarlılığı ve inflamasyon üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, IRS-1 protein ve inflamatuvar belirteç düzeyleri incelenmiştir. İçme suyu içinde %10 fruktoz tüketen grubun hipokampus IL-6 mRNA ekspresyon ve IRS-1 serin fosforilasyon düzeyi artarken, IL-1 β ve TNF α mRNA düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir [220]. Araştırmalar, yüksek fruktoz (%60) diyetiyle 12 hafta süreyle beslenmiş Kyoto sıçanlarda, p-IRS-1^{Ser} ve PI3K-p85 α düzeyinin artması, fakat p-Akt protein seviyesinin azalması sonucu beyin insülin rezistansının ortaya çıktığını göstermektedir [221, 222].

Yapılan çalışmalar, fruktoz tüketiminin çeşitli dokularda inflamatuvar faktörleri tetiklediğini ve insülin sinyal yolağı proteinlerini baskıladığını göstermektedir. Ancak, literatürde fruktoz veya yüksek yağlı diyet tüketimiyle oluşturulan metabolik

sendromda testiküler insülin sinyal yolağı ve testosteron düzeyi ilişkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Vasküler dokuda bozulmuş insülin sinyal iletim sisteminin şematik gösterimi Şekil 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Bozulmuş vasküler insülin sinyal iletim sistemi

Kırmızı oklar olası baskılanmayı göstermektedir.

2.5.5. Apoptozis, metabolik bozukluklar ve fruktoz diyeti ilişkisi

Fruktozca zengin diyet ile beslenmenin hiperglisemiyle birlikte oksidatif stres ve insülin direncine neden olduğu ileri sürülmektedir [223]. Hücresel ROS üretimindeki artışın protein, lipid ve DNA gibi hücre içi makro molekülleri olumsuz

etkileyerek, hücre içi inflamatuvar ve apoptotik cevaplara neden olabileceği ön görülmüştür [216, 223, 224]. ROS aracılığıyla mitokondriyal değişiklikler ve geçirgenliğin bozulması sonucu mitokondriden sitokrom c'nin salınarak; apoptotik yolları aktive ettiği ileri sürülmektedir [225]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, oksidatif stres ve pro-inflamatuvar sitokin düzeylerindeki artışa bağlı insülin direnci gelişebileceğini göstermektedir. Ayrıca, ROS'un hücresel etkileri arasında; *nükleer faktör kapa B* (NF-κB) aktivasyonu, TNFα ve IL-6 gibi sitokin indüksiyonu ve makrofaj infiltrasyonunun artması gösterilmektedir [226-228].

Yüksek yağ ve sukroz içeren yem ile 4 ay boyunca beslenmiş C57BL/6 farelerin adipoz dokusunda, p53 protein ekspresyonu artarken, adiponektin düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu gözlemlenmiştir [227]. Yüksek yağlı ve yüksek fruktoz içeren diyetle 8 hafta süresince beslenen sıçanlar incelendiğinde; kontrole kıyasla karaciğer MDA, sitokrom c ve caspase3 protein düzeylerini artırarak hepatosit apoptozisini tetiklediği bildirilmiştir [229]. Yüksek fruktoz ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde apoptozis parametrelerinin incelendiği bir çalışmada; kontrole kıyasla bu diyetle beslenen hayvanlarda hepatik apoptotik hücre sayısının arttığı, *sirt1* mRNA ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Apoptoz indükleyici faktörü (AIF) baskılanan yüksek yağlı ve fruktoz içeren diyetle beslenen hayvanlarda hepatik steatoz gelişmediğini bildirilmiştir [230]. Yüksek yağ ve fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda tetiklenen oksidatif stresin, adipoz dokuda glutatyon ve *nükleer faktör eritroid 2–ilişkili faktör 2* (Nrf2) mRNA ekspresyonunu azalttığı, lipid peroksidasyon belirteçlerinden MDA gen ifadesini artırdığı gösterilmiştir [231]. On altı hafta boyunca yüksek yağlı diyet ve içme suyu içinde %10 fruktozu tüketimi sonucu dislipidemi ve hiperinsülinemi kaynaklı insülin direnci gelişen Wistar sıçanlarda yapılan bir çalışmada; kontrole kıyasla bu diyetle beslenen hayvanlarda böbrek Bcl-2 düzeyi azalırken, apoptotik sitokrom c miktarının arttığı ve Bcl-2-bağımlı X protein (Bax) düzeyinin artış eğilimi göstermesine karşın değişmediği bildirilmiştir [232].

Fruktoz açısından zengin bir diyetle beslenmenin pankreas ve metabolik parametreler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; üç hafta süresince içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen Wistar sıçanlarda plazma glukoz düzeyi değişmezken, plazma insülin düzeyi ve HOMA-IR indeksinin arttığı bildirilmiştir.

Ayrıca, fruktoz diyetinin β hücre kütlelerinde azalmanın yanı sıra apoptotik β hücre sayısında belirgin bir artışın olduğu gösterilmiştir [233]. On iki hafta boyunca, enerji ihtiyacının %65'ini fruktozdan sağlayan sıçanların karaciğer ve pankreas dokularında dejenerasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu; endoplazmik stres belirteçlerinin arttığı saptanmıştır. Önemli olarak, fruktoz tüketiminin pro-apoptotik JNK ve apoptotik caspase3 aktivasyonunu artırdığı tespit edilmiştir [234]. Sprague-Dawley sıçanlara içme suyu içinde %10 fruktozun 8 hafta boyunca verilmesi sonrasında, renal inflamasyonun yanı sıra böbrek apoptoz ile ilişkili proteinlerin ve caspase1 ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı saptanmıştır [235]. Günlük kalori ihtiyacının %35'ini fruktozdan karşılayan farelerin; karaciğer oksidatif stres ve inflamatuvar belirteçlerin artışına, Bax/Bcl-2 oranı ve apoptotik hücre sayısındaki artışın eşlik ettiği bildirilmiştir [236]. On hafta boyunca içme suyu içinde %10 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların karaciğerinde inflamasyon olduğu ve lipid birikiminin artırdığı saptanmıştır. Bu hayvanların karaciğerinde apoptozis ilgili proteinlerden sitokrom c, p-JAK2, p-STAT3, Bcl-xL, caspase9 ve caspase3 düzeylerini artırdığı tespit edilmiştir [237]. İçme suyu içinde 16 hafta boyunca %10 fruktoz tüketen sıçanlarda; fruktoz tüketime bağlı olarak karaciğer p53 ve transforme edici büyüme faktör (TGF)- β 1 düzeyindeki artış ve SIRT1 seviyesinin baskılanmasının fibrozis oluşumu ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür [238]. Fruktozun apoptozis ve inflamasyon üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, fruktoz tüketimi ile ateroskleroz gelişen farelerde reaktif oksijen türlerinin, inflamatuvar sitokinlerin, Bax/Bcl-2 oranının, caspase3 ve caspase9 düzeylerinin artarak aortik apoptozisi tetiklediği saptanmıştır [216]. Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada, 20 hafta boyunca içme suyu içinde %10 fruktoz verilmesine bağlı olarak böbrek biyokimyasal ve apoptotik parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Fruktoz tüketiminin böbreklerde inflamasyonu tetiklediği ve renal fonksiyon bozukluğuna neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca, fruktoz tüketiminin renal MDA düzeyini ve apoptotik hücre sayısını artırdığı tespit edilmiştir [239].

Araştırmalar, fruktoz diyetinin artan ROS ve inflamatuvar sitokinler aracılığıyla çeşitli dokularda apoptozisi tetiklediğini göstermiştir. Fruktoz diyetinin testiküler apoptozis üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı olmakla birlikte “Fruktozlu diyetin testis fonksiyonu üzerine etkileri” bölümünde anlatılmıştır. Henüz, fruktoz

kaynaklı oluşan metabolik sendroma eşlik eden düşük testosteron düzeyi ile testiküler apoptozis ilişkisi moleküler düzeyde aydınlatılamamıştır.

2.5.6. İnflamasyon, metabolik bozukluklar ve fruktoz diyeti ilişkisi

Abnormal sitokin üretimi ile karakterize kronik inflamasyonun obezite, insülin rezistansı ve Tip 2 diyabet gibi metabolik bozukluklarla yakından ilişkili olduğu saptanmıştır [240]. İnflamasyon metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi için önemli bir patolojik süreçtir. Bu sürece makrofajlar, lenfositler, vasküler düz kas ve endotel hücreleri başta olmak üzere çeşitli hücre tipleri aracılık etmektedir [241, 242].

İnflamasyon oluşumu metabolik sendromda anlamlı değişimleri gözlemlenen siklooksijenazlar, lipoksijenazlar, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)-bağımlı oksidazlar, nitrik oksit sentaz ve peroksidazlar gibi çeşitli enzim ailelerinin aktivitesi ile kontrol edilmektedir. Ayrıca, inflamasyonun ROS oluşumunu ve oksidatif stresi artırdığı tespit edilmiştir [243-245]. Ek olarak, diyabette artan oksidatif stresin inflamasyonu tetiklediği de bilinmektedir [246]. Bu sebeple son yıllarda insan ve deney hayvanı çalışmalarında, metabolik sendrom ile ilişkili sistemik inflamasyon belirteci olarak prostaglandinler (PGI), CRP, adiponektin, TNF α ve IL-6 gibi sitokinler yaygın bir şekilde çalışılmaktadır [247, 248].

İnflamasyon uyarılma ve rezolüsyondan oluşan iki aşamayı takip eder. Uyarılma evresinde TNF α gibi sitokinler rol oynamaktadır. Aşırı besin veya yüksek yağlı diyet alımı sonucu fosfolipaz up-regülasyonuna bağlı olarak yağ asidi ve arakidonik asit salınımı tetiklenebilmektedir [249]. Farelerde yapılan çalışmalarda, fazla yağ asitleri alımının arakidonik asidi, PGG₂, PGE₂, PGF₂ α , TxA₂ ve TxB₂ gibi pro-inflamatuvar eikosanoidlere dönüştüren siklooksijenaz (COX) enzimini aktive ettiği saptanmıştır. Ayrıca, serbest yağ asitlerinin arakidonik asidi, LTA₄ ve LTB₄ gibi pro-inflamatuvar lökotrienlere dönüştüren lipooksijenaz enzimini tetiklediği de saptanmıştır [250, 251]. Üretilen bu eikosanoidler, nötrofillerin doku içine girmesine ve böylece apoptotik hücrelerin ve nekrotik kalıntının temizlenmesine katkı sağlamaktadır. Obez farelerde yapılan bir çalışmada, pro-inflamatuvar LTB₄ düzeyindeki artışın, adiposit insülin direncine yol açan NF- κ B ve ateroskleroz

oluşumuna neden olan vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) düzeyini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, 5-lipooksijenaz ürünlerinin neden olduğu NF- κ B aktivasyonu sonucunda, monosit kemoatraktant protein-1 (MCP-1), IL-6 ve TNF α gibi pro-inflamatuvar faktörlerin sekresyonunda artış olduğu saptanmıştır [252]. Sitokinler mitogenez, fibrozis ve kemotaksis gibi çeşitli hücrel süreci yönlendirmesinin yanı sıra çok sayıda genin transkripsiyonunda anahtar rol oynayan NF- κ B aktivasyonuna da neden olurlar [253, 254]. Araştırmacılar, apoC-III'ün karaciğer ve bağırsaklarda lipoprotein lipazı inhibe ederek trigliserit düzeyinin artışına katkı yaptığını göstermişlerdir [203, 255]. C57BL/6 fareden izole edilmiş periferik kan monosit hücrelerinde yapılan çalışmalarda, inflamasyon, ateroskleroz ve insülin rezistansında önemli rol alan apoC-III'ün NF- κ B aktivasyonuna neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca, NF- κ B artışının insülin rezistansına neden olan sitokin üretimini tetiklediği gösterilmiştir [256].

Fruktoz tüketimi kaynaklı insülin direnci ile vasküler inflamasyon arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, sıçanlar yüksek yağlı diyet ve içme suyu içerisinde %10 fruktoz ile 12 hafta boyunca beslenerek incelemeye alınmıştır. Araştırma, uygulanan diyetin insülin direncine neden olduğu ve sıçanların aortalarında yapılan ölçümlerde; inflamatuvar faktörlerden TNF α , NF- κ B, VCAM-1 ve iNOS düzeylerini artırdığını göstermiştir. Histopatolojik incelemeler sonucu bu diyetin, sıçanların aort dokusunda lökosit infiltrasyonu, yağ birikimi, köpük hücreleri ve kolajen miktarını artırdığı ve vasküler inflamasyon geliştirdiği gösterilmiştir [28]. Sekiz hafta boyunca yüksek fruktoz ve yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer NF- κ B düzeyinin arttığı saptanmıştır [229].

Fruktoz tüketiminin inflamasyon üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada; içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen sıçanlarda hepatik PPAR α aktivasyonu baskılanmasına, pro-inflamatuvar TNF α 'nın aktivitesinin artışının eşlik ettiği gösterilmiştir [257]. p53 geni silinmiş transgenik fareler normal diyet ile beslendiğinde, adipoz dokuda pro-inflamatuvar sitokin TNF düzeyinin arttığı ve makrofaj belirteçlerinden CD68 ekspresyonunun anlamlı olarak yükseldiği saptanmıştır. İlaveten araştırmacılar, p53 eksikliğinin oksidatif stres kaynaklı NF- κ B ekspresyonunu azaltarak pro-inflamatuvar sitokin indüksiyonunu bozduğunu bildirmişlerdir [227]. Dokuz hafta boyunca içme suyuna %60 fruktoz ilave edilerek

beslenip insülin direnci geliştirilen Wistar sıçanlarda, karaciğer TNF α mRNA ve NF- κ B protein düzeylerinin artmış olduğu; ayrıca kan trigliserit seviyesinin yükseldiği saptanmıştır [29]. Diğer bir çalışmada, yüksek fruktoz (%60) diyetiyle 8 hafta süreyle beslenen Sprague-Dawley sıçanlarda serum LDL ve total kolesterol düzeyinin yanı sıra karaciğer steatoz skorunun anlamlı bir şekilde arttığı bildirilmiştir. Bu bulgulara ek olarak, fruktoz tüketimiyle insülin direnci gelişen hayvanlarda inflamatuvar belirteçlerden serum CRP ve laktat dehidrogenaz aktivitesinin anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır [212]. Uzun süre (16 hafta) içme suyu içinde %30 fruktoz tüketimin inflamatuvar parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sıçanların karaciğerinde serbest yağ asidi, TNF α ve IL-6 düzeyleri ile ALT ve AST miktarlarının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen hayvanların karaciğerinde, steatoz ve lobüler inflamasyonun olduğu gösterilmiştir [258]. On altı hafta süre ile içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen sıçanların karaciğerinde total kolesterol, trigliserit, IL-1 β , IL-6 ve TNF α düzeyleri artışına lipid birikiminin eşlik ettiği gösterilmiştir [238]. Günlük kalori ihtiyacının %35'ini fruktozdan karşılayan farelerde yapılan çalışmada; kontrole kıyasla fruktoz tüketiminin serum trigliserit, kolesterol ve TNF α düzeyi artışına hepatik apoptozis, iNOS ve glutatyon düzeylerindeki artışın eşlik ettiği saptanmıştır [236]. Laboratuvarımızda, fruktoz tüketiminin dişi ve erkek sıçanların karaciğer TNF α ve IL-1 β düzeylerini artırdığını saptadık. Ayrıca, fruktoz tüketiminin karaciğer trigliserit akümüülasyonunu artırdığı ve hiperemi oluşturduğu tespit edilmiştir [30]. Yüksek fruktoz diyetinin karaciğer ve intestinal sistem üzerine etkilerinin incelendiği son çalışmamızda; Wistar sıçanlar içme suyu içinde %20 fruktoz ile 15 hafta süresince beslenmiştir. Fruktoz tüketen hayvan plazma glukoz, insülin, trigliserit, TNF α ve IL-1 β düzeylerinin yanı sıra ileum ve karaciğer NF- κ B ve iNOS protein miktarlarının arttığı saptanmıştır [56]. Sekiz hafta süresince içme suyu içinde %20 fruktoz alan farelerde, serum total kolesterol, trigliserit ve LDL düzeyinin arttığı, HDL seviyesinin ise azaldığı saptanmıştır. Histopatolojik incelemede ayrıca, fruktoz tüketiminin, torasik aorta endotelyumunda kalınlaşmayla karakterize vasküler hasara neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz diyetinin karaciğerde bariz yağlanmaya neden olduğu; inflamasyon ve nekroz oluşumunu tetiklediği tespit edilmiştir [217].

Şeker kullanımıyla inflamasyonun bağlantısının incelendiği bir çalışmada, sıçanların mezenterik venüllerindeki adherent hücre sayıları fruktoz ve dekstrozun intragastrik uygulaması sonrasında Doppler yöntemi ile ölçülmüştür. İntragastrik uygulama sonrası adherent hücre sayısında artış sadece fruktoz grubunda görülürken, dekstroz alan sıçanlarda herhangi bir değişim görülmemiştir. Ayrıca, fruktozun vasküler endotele lökosit yapışmasını indüklediği tespit edilirken, dekstrozun lökosit aderansı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, fruktozun intestinal mikrosirkülasyonda inflamasyonlu bir cevap oluşturması önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir [259]. Fruktoz diyetle (%60 oranında) 8 hafta boyunca beslenen sıçanların kontrol grubuna göre aorta dokusunda ICAM-1, VCAM-1 ve ET-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [218]. Diğer bir çalışmada içme suyu içinde %30 fruktoz tüketen hayvanların aorta halkalarında inflamatuvar belirteçlerden NF- κ B, TNF α ve IL-1 β düzeylerinin artarak ateroskleroza neden olduğu gösterilmiştir [216]. Laboratuvarımızda yüksek fruktozlu mısır şurubunun aorta üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarımızda; mısır şurubu ile beslenen sıçanlarda inflamatuvar belirteçlerden iNOS ve NADPH oksidaz ekspresyonları artarken, SIRT1 protein düzeyinin azaldığı gösterilmiştir [213, 214]. Diğer çalışmamızda fruktoz (%10 içme suyu içinde) içeren diyetle beslediğimiz dişi sıçan aorta iNOS mRNA düzeyinin artmış olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, fruktoz tüketen dişi ve erkek sıçan aortasında iNOS protein düzeyinin arttığı bildirilmiştir [215].

İçme suyu içinde fruktozu (%10 oranında) 8 hafta boyunca tüketen sıçanlarda; serum ve renal IL-1 β , IL-6 ve TNF α düzeylerindeki artışa renal apoptozisin eşlik ettiği gösterilmiştir [235]. Yüksek fruktoz diyetinin renal inflamatuvar belirteçleri üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamızda, içme suyu içinde fruktozu (%20 oranında) 15 hafta süreyle tüketen sıçan renal NF- κ B mRNA ve protein ekspresyonunun yanı sıra TNF α ve IL-1 β düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [57]. Wistar erkek sıçanlarda, 10 hafta boyunca %60 fruktoz diyetinin iskelet kas dokusunda inflamatuvar faktörler ve insülin sinyal yolağı proteinlerine etkisinin incelendiği bir çalışmada: fruktoz kaynaklı hiperinsülinemik ve insüline dirençli sıçanlarda inflamatuvar belirteçlerden TNF α , CRP, COX-2 ve protein kinaz teta düzeyinin arttığı tespit edilmiştir [219].

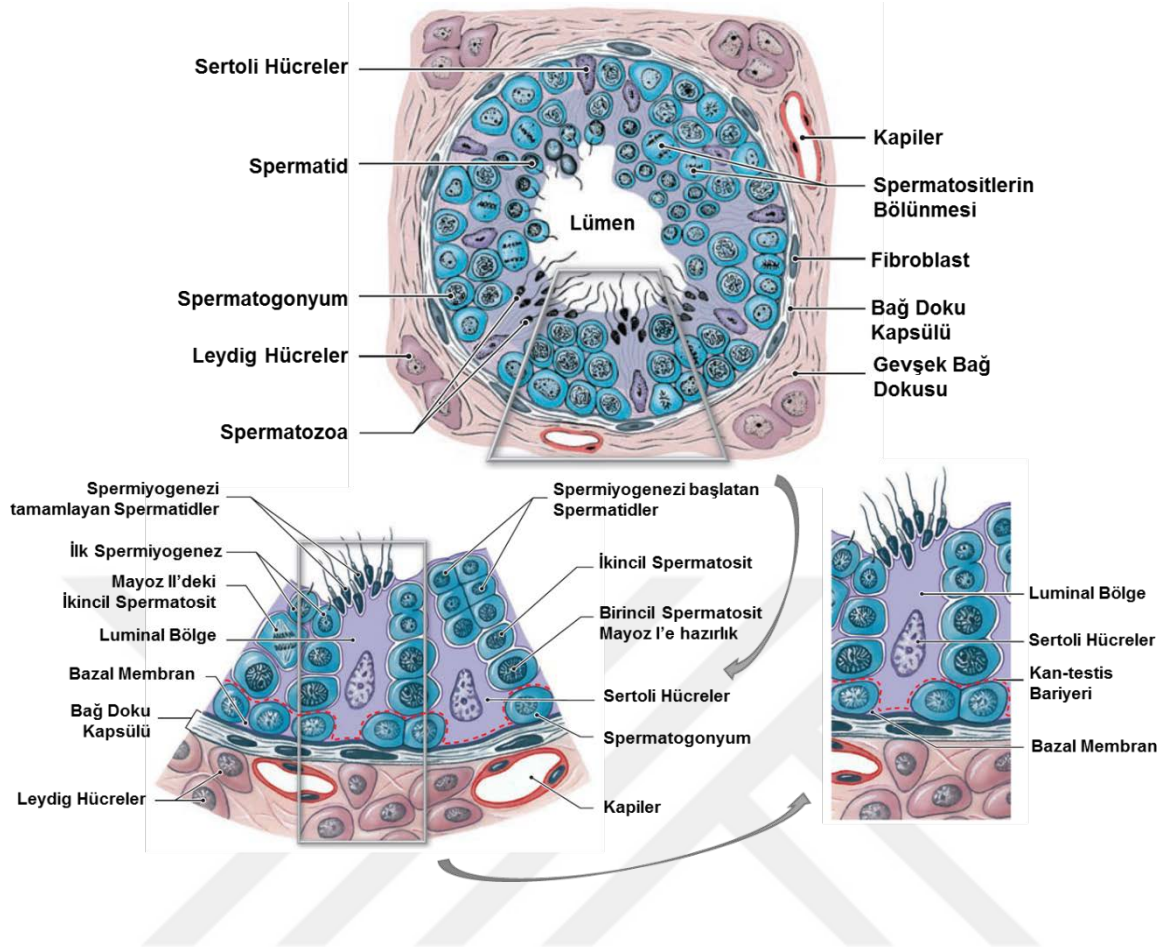
Glukoz intoleranslı hastalar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, şekerli içecek alımının plazma IL-6 ve TNF α düzeylerini artırdığı saptanmıştır. Ayrıca, bu hastalarda hipergliseminin, süperoksit radikal üretimini artırarak inflamatuvar yanıtı indüklediği ileri sürülmüştür [260]. VKİ 28 kg/m² olan obez bireylerde, 10 hafta boyunca içme suyu ve yiyecekler içerisinde sukroz tüketiminin, inflamasyon belirteçlerinden serum haptoglobin, transferrin ve CRP düzeylerini artırdığı saptanmıştır [261]. Geniş ölçekli düzenlenen iki kohort çalışmasında, düzenli şekerli içecek tüketiminin hiperürisemi ve eklem kıkırdak dokusunda ürik asit birikmesi ile karakterize gut patolojisine neden olduğu saptanmıştır [262, 263]. İnflamasyon şeker ilişkisinin incelendiği klinik bir çalışmada, sağlıklı ve normal kilolu genç erkeklere 3 hafta boyunca günlük 600 ml içinde 40 veya 80 gram fruktoz, glukoz veya sukroz verilmesine bağlı olarak, glukoz ve lipid metabolizmasında önemli bozulmalar tespit edilmiştir. Ayrıca, yüksek duyarlıklı CRP düzeyindeki artışın inflamasyonu tetiklediği saptanmıştır [264]. Son yirmi yıldır yapılan araştırmalarda, fruktoz tüketiminin çeşitli dokularda sitokin indüksiyonu aracılığıyla inflamasyonu tetiklediği gösterilmiştir. Fruktoz tüketiminin testiküler doku üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlı olmakla birlikte “Fruktozlu diyetin testis fonksiyonu üzerine etkileri” bölümünde anlatılmıştır.

2.6. Metabolik Hastalık Modellerinde Testiküler Fonksiyon Bozuklukları ile İlgili Mekanizmalar

Batılı ülkelerdeki çiftlerin %15'i infertiliteden etkilenmektedir ve bu vakaların %50'sinin erkek kaynaklığı saptanmıştır. Ayrıca, infertil hastaların sadece %15'inde genetik anomalilerden kaynaklı kısırlığın olduğu ileri sürülmektedir [265, 266]. Erkek kaynaklı infertilitenin nedenlerinin iyi anlaşılabilmesi ve çözüm üretilebilmesi için; testiküler doku fizyolojisinin ve metabolik bozukluklardaki değişikliklerin detaylıca araştırılması gerekmektedir. Testiküler dokunun spermatogenez ve steroidojenik aktivitenin sürdürülmesi gibi iki önemli görevi bulunmaktadır. Spermatogenez boyunca morfolojik, hücresel ve birçok kritik biyokimyasal olay gerçekleşir [267]. Germ hücrelerinin farklılaşarak spermatozoa dönüşmesi için Sertoli hücrelerinin fiziksel ve metabolik yardımına ihtiyacı vardır [26]. Testosteron, Leydig hücreleri tarafından üretilir ve yeterli spermatogenez için gereklidir. Bu nedenle, erkeklerin üreme kapasitesi ve fertilitésinin korunması için

Leydig hücre fonksiyonlarının sürdürülebilir ve sağlıklı olması gerekmektedir. Testosteron biyolojik etkilerini peritubal myoid ve Sertoli hücrelerdeki androjen reseptörlerine bağlanarak gösterir [268]. Seminifer tübülde spermatogenezde rol alan hücreler Şekil 2.6'da gösterilmiştir [269].

Tip 2 diyabetin testiküler doku ve fonksiyonu üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; Sprague-Dawley sıçanlar iki hafta süresince içme suyu içinde %10 fruktoz verildikten sonra, düşük doz streptozosin uygulaması ile hiperglisemik yapılmıştır. Histolojik değerlendirmede diyabetik hayvanlarda spermatogonia, spermatosit ve spermatozoa sayılarında azalmanın olduğu gösterilmiştir [270]. Tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada, diyabetik hayvanların sperm sayısı ve motilitesinin azaldığı saptanmıştır [271]. Yağlı diyetin spermatogenez üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, hayvanların sperm sayılarında azalma ve sperm morfolojilerinde anormal değişikliklerin olduğu gösterilmiştir [272, 273]. Yem içinde yüksek yağ içeren diyetle 24 hafta boyunca beslenmiş farelerin serum testosteron düzeyinin baskılandığı bildirilmiştir [274]. Diğer bir çalışmada, on hafta süresince yağlı diyetle beslenen farelerde, serum östradiol düzeyinin arttığı, ancak serum testosteron düzeyi ve sperm hareketliliğinin azaldığı saptanmıştır. Testiküler morfolojik analizlerde, yağlı diyetle beslenen farelerde seminifer epitelde atrofi olduğu, Sertoli hücreleri ile spermatojenik hücreler arasındaki adhezyonun azalmasına KTB bütünlüğünün bozulmasının eşlik ettiği gösterilmiştir [275].



Şekil 2.6. Testis seminifer tübül ve sperm olgunlaşması

Testiküler endokrin fonksiyonlar ve apoptotik yolak etkilerinin incelendiği araştırmalarda, spermatogenez sırasındaki sağ kalım ve germ hücre apoptozisinin düzenlenmesinde FSH, LH, östradiol ve testosteron gibi hormonların belirleyici rolü olduğunu ileri sürülmüştür [276, 277]. FSH ve LH gibi gonadotropinler, ön hipofizi uyarılmış gonadotropik hücreler tarafından salgılanan dimerik glikoproteinlerdir [278]. Leydig hücrelerde testosteron üretimi LH uyarımı sonrasında başlar. Konuyla ilgili bir araştırmada, LH eksikliği olan Wistar sıçanlarda, testis apoptotik belirteçlerinden Bax, caspase1 ve caspase2 ekspresyonlarının belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir [279]. Diğer bir çalışmada, Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) antagonisti uygulanarak hormon eksikliği yapılan insan ve fare germ hücrelerinde apoptozisin başlaması için p38 Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) aktivasyonu ve iNOS indüksiyonun gerekli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, GnRH antagonisti yanında selektif iNOS inhibitörü (aminoguanidin) uygulamasının, hormon yoksunluğuna bağlı germ hücre

apoptozisinde önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir [280]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada; GnRH hormon eksikliği sonucunda ortaya çıkan testiküler stres ve mitokondriyal Bax düzeyi artışına, germ hücre apoptozisi artışının eşlik ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada spermatosit ve Leydig hücre sitoplazmasında Bax protein lokalizasyonu gösterilmiştir [281]. Testosteron düzeyinin baskılanmasın testiküler oksidatif stres ve apoptozis ile ilişkisinin incelendiği bir çalışmada, 30 gün östradiol (β -estradiol-3-benzoate) uygulanan sıçanlarda serum ve testiküler testosteron düzeyinin azalmasına, testiküler oksidatif stres artışının eşlik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, testosteron düzeyinin baskılanan grupta testiküler Bax protein düzeyi ve caspase8 aktivasyonunun arttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar, testosteron düzeyinin düşmesiyle oluşan testiküler oksidatif stresin germ hücre apoptozisini tetikleyerek seminifer tübülde germ hücre kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir [23]. Wistar ratlardan elde edilen Sertoli hücrelerde 5α -dihidrotestosteronun (DHT) etkilerinin incelendiği bir çalışmada, DHT uygulamasının Sertoli hücre p53, Bax, caspase3 ve caspase9 mRNA düzeylerini azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca, DHT uygulanan Sertoli hücrelerde caspase3 aktivitesi ve Bax/Bcl-2 oranının azalmasına, Bcl-2 protein düzeyindeki artışın eşlik ettiği gösterilmiştir [24]. Tip 2 diyabetin testiküler apoptozis üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, intraperitoneal streptozosin ve yüksek yağlı diyetle Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş hiperglisemik sıçanların testislerinde apoptotik hücre sayısının arttığı fakat, testis ağırlığının azaldığı gösterilmiştir [282]. Tip 1 diyabetin testiküler dokuda apoptozis üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; diyabetik Sprague-Dawley sıçanların serum testosteron düzeylerinin baskılandığı saptanmıştır. Diyabetik hayvan testiküler doku apoptotik proteinlerden Bax, bölünmüş caspase3 ve caspase9 düzeylerinin artışına, anti-apoptotik Bcl-2 düzeyindeki azalmanın eşlik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, diyabetik sıçan seminifer tübülde hücre sayısı azalması ve sperm hücreleri sitoplazmasında vakuolasyon gibi testiküler hasar oluştuğunu gösteren bulgular elde edilmiştir [283]. Obezitenin testiküler apoptotik yollar üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda; yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda testiküler oksidatif stres ve inflamasyon indüksiyonuna, *bax/bcl2*, *p53*, *bax*, *caspase8*, *caspase9* ve *caspase3* mRNA ekspresyon ve caspase3 protein düzeyi artışının eşlik ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, obez hayvan testiküler anti-apoptotik *bcl-2* mRNA düzeyinin baskılandığı bildirilmiştir [284, 285]. Obezitenin spermatogenez üzerine etkilerinin incelendiği

diğer bir çalışmada; yüksek yağlı diyetin sıçan testiküler doku harabiyeti ve p53 protein düzeyi artışına neden olduğu gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal çalışmalar, kontrol grubu spermatozoalarında p53 pozitif hücre tespit ederken, yüksek yağlı diyetle beslenen hayvan seminifer epitelyumunun tümünde p53 pozitiflik saptanmıştır [286]. Çalışmalar, plazma testosteron düzeyinin baskılanması ile testiküler oksidatif stresi artışı sonucu apoptozisin tetiklenmesi arasında ilişki olabileceğini göstermektedir.

Adipoz doku, hipotalamus-hipofiz-adrenal döngüye negatif geri bildirim yapan leptin ve pro-inflamatuvar sitokinleri üretmektedir. Pro-inflamatuvar TNF, IL-6 ve IL-1 β 'nin dahil olduğu adipositokinlerin, testosteron salgılanmasını hipotalamus-hipofiz ve testis düzeyinde inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, leptinin Leydig hücresinde gonadotropin uyarıcı etkiyi inhibe ederek testislerde üretilen androjenik ürünlerin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir [287]. Bu çalışmalarda, testosteronun adipoz dokuda lipoliz, yağ depolanması ve inflamatuvar faktörlerin salınımı gibi birçok olayı düzenlediği gösterilmiştir [288, 289]. Ayrıca, testosteron düzeyindeki azalmanın lipoprotein lipaz aktivitesini artırarak adipositlerde trigliserit akümülyasyonuna neden olduğu gösterilmiştir [290]. Streptozosin uygulamasıyla diyabet modeli oluşturulmuş Sprague–Dawley sıçanlarda, reproduktif organ (testis ve epididimis) ağırlıkları ve serum testosteron düzeyinin kontrole kıyasla azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, diyabetik sıçanların testis dokusunda oksidatif stres ve inflamatuvar belirteçlerin kontrol grubuna kıyasla arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, diyabetik sıçanlara insülin replasman tedavisi yapıldığında, azalmış olan testis steroidojenik (StAR ve 3 β -HSD) enzim düzeylerinin ve serum testosteron düzeyinin normal değerlere geri döndüğü gösterilmiştir [291]. Tip 2 diyabetin testiküler doku üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; diyabetik sıçanların testis dokusunda dejenerasyon, inflamasyon ve nekroz ile seyreden çeşitli histopatolojik değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, diyabetik sıçanların testisinde StAR ve SIRT1 mRNA ekspresyonunun kontrol hayvanlarınkine kıyasla azaldığı bildirilmiştir [292]. Fan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenerek obez yapılmış C57BL/6 farelerde; testiküler TNF α ve IL-1 β mRNA ve NF-kB protein düzeyinin artışa, total testosteron miktarının baskılanmasının eşlik ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, obez hayvanlarda artan testiküler inflamasyonun testis doku harabiyete neden olduğu

savunulmuştur [293]. Yüksek yağlı diyet ile beslenme sonucunda sistemik inflamasyon, dislipidemi ve insülin direnci gelişen C57BL/6J farelerin testislerinde kolesterol birikimi olduğu ve sperm morfolojilerinde anormal değişikliklerin olduğu gösterilmiştir [294]. Veriler, vücuttaki testosteron düzeyi ile inflamatuvar faktörler arasında etkileşimin olduğunu göstermektedir.

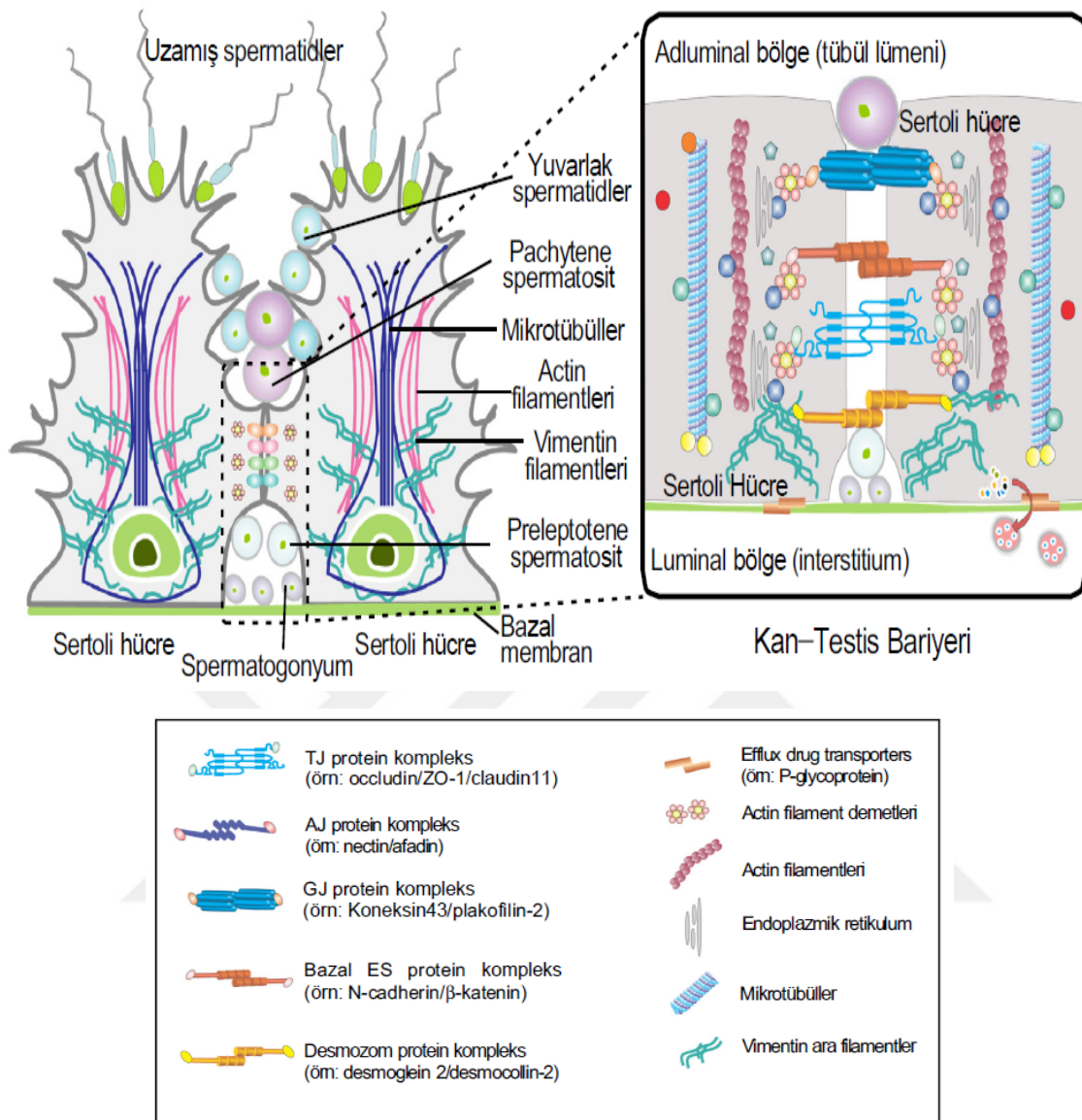
İnsülin sinyal yolağı proteinleri hücre homeostazının korunmasında görev almaktadır. İnsülin ve IGF-1 reseptörlerinden gelen hücresel büyüme, farklılaşma, metabolizma ve yaşlanmayla ilgili uyarıların, hücresel yanıtının düzenlenmesinde kilit rol oynadıkları bilinmektedir [295]. İnsülin sinyal yolağının reproduktif sistem üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar 1970'lerden bu yana devam etmektedir [296, 297]. Son çeyrek asırda, insülin sinyal yolağının erkek üreme sistemindeki önemi ile ilgili yeni bilgiler sağlayan birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda, insülin sinyal yolağının testiküler gelişim, hücresel stres cevapların düzenlenmesi, mikrosirkülasyon ve spermatogenezin sürdürülebilmesi için önemli olduğu gösterilmiş olup, "İnsülin Sinyal Yolağı" bölümünde detaylı anlatılmıştır. Testiküler fonksiyonların sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için, insülin sinyal yolağı protein bütünlüğünün korunması gerekmektedir. Metabolik bozukluklarda görülebilen infertilitenin önlenmesi veya tedavi edilebilmesi için testiküler insülin sinyal yolağının endokrin, inflamatuvar ve apoptotik faktörlerle birlikte detaylı incelenmesi gerekmektedir. Bu sebeple, metabolik bozukluklardan biri olan diyabetin infertilite üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; diyabet oluşturulan sıçanlarda serum LH, FSH ve testosteron düzeylerinin yanı sıra fertilitenin de azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, diyabetik hayvanların testis morfolojisinin bozulduğu, GLUT3 ve insülin reseptör düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [298]. Diğer bir çalışmada, Tip 2 diyabetik sıçanlarda artan testiküler oksidatif strese, serum LH ve testosteron düzeyinin azalmasının eşlik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, diyabetik hayvan testiküler IRS-1 mRNA ve protein ekspresyonunun baskılandığı bildirilmiştir [271]. Metabolik bozukluklarda insülin sinyal yolağı elemanlarının incelendiği çalışmada, Tip 1 diyabet oluşturulan farelerin testis dokusunda p-Akt ve SIRT1 protein düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir [299]. Benzer bir çalışmada, diyabet modeli oluşturulan Wistar sıçanlarda testis inflamatuvar belirteçleri artarken, serum testosteron düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, kontrole kıyasla diyabetik sıçan testis PI3K ve Akt mRNA ekspresyonlarının azaldığı

bildirilmiştir [300]. Yüksek yağlı diyetle beslenmenin testiküler doku üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; on iki hafta yüksek yağlı diyetle beslenen tavşanların plazma testosteron düzeyi ve testis ağırlığının azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, yağlı diyetin tavşan testis *enos* mRNA ekspresyonunu azalttığı, *nnos* mRNA düzeyini ise değiştirmedeği bildirilmiştir [301]. Diğer bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen Sprague-Dawley sıçanların vücut ağırlıklarının artmasına karşın testis ağırlığı ve serum testosteron düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Ek olarak, yağlı diyetle beslenen hayvan testiküler mTOR mRNA ve protein düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir [302]. Obez C57BL/6 ob/ob farelerin yüksek yağlı diyetle beslenmesinin testiküler doku üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; serum ve testiküler testosteron düzeylerinin azalmasına, testiküler p-Akt/Akt ve p-mTOR/mTOR aktivasyonlarının baskılanması eşlik ettiği bildirilmiştir [303]. Metabolik Sendrom, Tip 2 diyabet ve obezitede insülin direnci ve testosteron düzeyi ilişkisi Şekil 2.7’de gösterilmiştir [287].

neden olabileceği ön görülmektedir. Ancak, literatürde fruktoz tüketimiyle oluşan metabolik sendromda testiküler inflamasyon ve apoptotik belirteçlerin insülin sinyal yolağı üzerine etkilerini inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

2.6.1. Metabolik bozukluklarda Kan-Testis Bariyeri

Testisteki gelişmiş germ hücrelerini bağışıklık sisteminden ayıran ve bu sistemin etkisinden koruyan yapıya Kan-Testis Bariyeri (KTB; Sertoli hücre bariyeri) adı verilir. KTB'nin tümüyle zarar görmesi kısırlıkla doğrudan ilgili bulunmuştur. KTB ayrıca, normal spermatogenezis sırasında germ hücrelerin olgunlaşmasına kısmen açılıp kapanarak destek olmaktadır [27]. Spermatosit hareketi sırasında KTB'nin yeniden yapılanması, büyük ölçüde Sertoli hücre kaynaklı sitokin ve hormon salgılanmasının yanı sıra lokal faktörlerin koordineli bir şekilde çalıştığı, lokalizasyon ve protein ekspresyonlarının değiştiği karışık bir süreç olarak ifade edilmiştir [306]. Yapılan çalışmalarda, preleptoten/leptoten spermatositlerin TGF- β ve TNF α gibi sitokin üreterek KTB yeniden yapılandırmasını kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür [307, 308]. KTB, birkaç kavşak tipinden meydana gelmiştir. Bu kavşaklara, sıkı bağlantı bölgeleri (tight-junctions; TJ), özelleşmiş bazal ektoplazma (basal ectoplasmic specializations; basal ES), geçit bölgeleri (gap-junctins; GJ) ve desmozomları örnek gösterebiliriz. Bu kavşak tipleri seminifer epitel hemostazı ve spermatogenezis etkilemeden; belirli periyot aralıklarında parçalanıp sızıntı yaparak zigoten spermatositlerin adluminal bölgeye girmelerine olanak sağladıkları saptanmıştır [267, 309, 310]. Günümüzde infertilite nedenleri arasında KTB bütünlüğünü sağlayan occludin, claudin11, zonula okludens-1 (ZO-1), Koneksin43, β -katenin ve N-cadherin gibi proteinlerin; toksik madde maruziyeti veya metabolik bozukluklar nedeniyle baskılanarak yapılarının bozulması gösterilmektedir [311]. KTB bileşenlerini oluşturan yapının ayrıntılı gösterimi Şekil 2.8'de verilmiştir [312].



Şekil 2.8. Kan-Testis Bariyer bileşenleri

Son yıllarda yapılan birçok çalışma, eksojen toksik kimyasalların KTB bütünlüğünü bozarak spermatogenez bozukluğuna neden olduğunu göstermektedir [313]. Erkek reproduktif sistem üzerinde toksik etkileri bulunan deoksinivalenolun rodentler üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada; toksikasyona maruz kalan fare testiküler inflamasyonunun arttığı, serum testosteron düzeyinin baskılanmasına N-cadherin ve occludin protein düzeylerinin azalması eşlik ederek KTB bütünlüğünün bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir [34]. Yapılan çalışmada gıda ambalajlanmasında kullanılan Di-2-etilheksil ftalat uygulanan hayvanlarda; testiküler oksidatif stresin artması β-katenin, Koneksin43 ve ZO-1

protein düzeylerini baskılayarak KTB bütünlüğünü bozduğu gösterilmiştir [314]. Kemoterapötik doksorubisinin testiküler fonksiyonlar üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, doksorubisin uygulaması sonucu artmış testiküler oksidatif stresin apoptotik yolağı; testiküler apoptozisi NF- κ B, p38 ve caspase3 protein aktivasyonu aracılığıyla tetikleyebileceğini gösterilmiştir [315]. Ayrıca, diğer bir çalışma doksorubisin kaynaklı artmış testiküler oksidatif stres ve apoptozisin; KTB bütünlüğünü mTOR proteinini baskılayarak bozduğunu belirtmiştir [35].

IGF-1 eksikliğinin KTB proteinleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, IGF-1 geni kısmi baskılanmış fare testiküler N-cadherin, β -katenin ve ZO-1 düzeylerinin azaldığı claudin miktarının değişmediği gösterilmiştir [155]. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda; Tip 1 diyabetin p-Akt ve Bcl-2 proteinlerini baskılayıp, apoptotik Bax aktivasyonu aracılığı ile seminifer tübül yapısını ve KTB bütünlüğünü bozarak sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu gösterilmiştir [36]. Diyabet kaynaklı testiküler hasarın incelendiği bir çalışmada; yüksek yağlı diyet ve streptozosin uygulaması ile diyabet modeli oluşturulmuş farelerde kontrole kıyasla diyabetik hayvanlarda testiküler oksidatif stresinin arttığı ve KTB bütünlüğünün ZO-1 mRNA ve protein ekspresyon baskılanması aracılığı ile bozulduğu bildirilmiştir [316]. Tip-1 Diyabet kaynaklı oksidatif stresin KTB üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, kontrole kıyasla diyabetik hayvanların occludin, claudin11, Koneksin43, ZO-1 ve N-cadherin protein düzeylerinin azalarak KTB hasarına neden olduğu gösterilmiştir [317].

Yapılan çalışmalarda yüksek yağlı diyetle beslenerek obezite oluşturulan deney hayvanlarında; KTB bütünlüğünün bozulmasına testiküler occludin, ZO-1, β -katenin ve N-cadherin protein ekspresyonlarındaki değişimlerin aracılık ettiği gösterilmiştir [318]. Diğer bir çalışmada yağlı diyet ile 10 hafta beslenen farelerin testiküler sıkı bağlantı proteinlerinden occludin ve ZO-1 düzeyinin azalmasına KTB bütünlüğünün bozulmasının eşlik ettiği bildirilmiştir gösterilmiştir [275]. Obez infertil ve azospermili erkeklerde artan serum leptin düzeyinin modellendiği bir çalışmada; 2 hafta boyunca günlük intraperitoneal 3 mg/kg leptin uygulanan farelerde serum testosteron düzeyi değişmezken testiküler apoptozisin arttığı saptanmıştır. Ayrıca, kontrole kıyasla leptin uygulanan hayvanlarda claudin5, occludin ve ZO-1 protein düzeylerinin baskılanarak KTB bütünlüğünün ve sperm parametrelerinin

bozulduğu gösterilmiştir [319]. Diğer bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenerek glukoz toleransı geliştirilmiş obez farelerde; KTB preteinlerinden Filamin A düzeyinin kontrole kıyasla azaldığı gösterilmiştir [320]. Bu veriler, testiküler apoptozis ve inflamasyonun; testosteron düzeyini azalttığı ve KTB bütünlüğünü bozduğunu göstermiştir. KTB yapısının bozulmasının sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkiler göstererek infertiliteye neden olacağı bilinmektedir. Fruktoz diyetinin testiküler inflamasyon ve apoptozisi tetikleyerek KTB bütünlüğünü bozması öngörülse de, literatürde bu diyetin KTB yapısı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır.

2.6.2. Fruktozlu diyetin testis fonksiyonu üzerine etkileri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabetin testiküler inflamasyonu tetiklediği, insülin sinyal yolağı proteinlerini baskıladığı ve testosteron düzeyini düşürdüğü saptanmıştır [271, 300]. Ayrıca obez hayvanlarda yapılan çalışmalarda testiküler dokuda inflamatuvar belirteçlerin artışına; testosteron düzeyi ve insülin sinyal yolağı proteinleri baskılanmasının eşlik ettiği gösterilmiştir [293, 303]. Literatürde, fruktoz tüketiminin testiküler dokudaki etkilerini inceleyen çalışmalarda sınırlıdır. Ayrıca, fruktoz tüketiminin testiküler insülin sinyal yolağı, inflamasyon ve testosteron düzeyi üzerine etki ve ilişkisini gösteren çalışmalar bulunmamaktadır.

Fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; üç hafta boyunca %80 D(+)-fruktoz ilave edilmiş yem ile beslenen Wistar sıçanların testis ağırlığında anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir [321]. Yem içinde yüksek fruktozun zamana bağlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek fruktoz ile 4 hafta boyunca beslenmiş Sprague-Dawley sıçanların testis ağırlığı ve plazma testosteron düzeyleri kontrole göre dramatik bir şekilde azalırken, bu değişimin 12 ve 24 haftalık gruplarda normale döndüğü bildirilmiştir [322]. Laboratuvarımızda yapılan araştırmada, yüksek fruktoz diyetinin erkek sıçan adipoz dokuda total ve serbest testosteron düzeyini baskılayan, dişi sıçanlarda testosteron düzeylerini adipoz dokuda artırdığı ayrıca, plazma testosteron miktarları üzerinde değişiklik yapmadığı bildirilmiştir [20].

Dört haftalık Sprague-Dawley sıçanların 8 hafta boyunca fruktozca zengin diyet (%60 yem içinde) ile beslendiği bir çalışmada; fruktoz tüketimiyle insülin direnci gelişen hayvanların testis ağırlığı, reproduktif hormonlardan LH, FSH ve testosteronun serum düzeyinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca histolojik incelemelerde fruktozca zengin diyetle beslenen sıçanların spermatojenik hücrelerinde düzensiz bazal membranlar, vakuolizasyonlar ve Sertoli hücrelerde dejenerasyon olduğu gösterilmiştir [37]. Diğer bir çalışmada altmış gün içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen Wistar sıçanların testis ağırlığı, serum testosteron düzeyi ve sperm miktarlarının kontrole kıyasla azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, fruktoz tüketen grubun testis seminifer tübül lümenine epitel dökülmesi gibi dejeneratif değişikliklerin olduğu gösterilmiştir [22]. Yüksek fruktozlu mısır şurubu diyetinin (10 hafta, %15 içme suyu içinde) sperm parametreleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; kontrole kıyasla mısır şurubu tüketen Wistar sıçanların sperm sayı ve hareketliliğinde azalma eğilimi görülmesine karşın anlamlı olmadığı saptanmıştır. Ayrıca, mısır şurubu tüketen grubun kontrole kıyasla testiküler GLUT5 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [323]. Otuz günlük Wistar sıçanlara 30 gün boyunca içme suyu içinde fruktoz (%20) tüketiminin incelendiği çalışmada, hayvanların vücut ağırlığı artarken testis ağırlığının değişmediği gösterilmiştir. Ayrıca, histopatolojik çalışmalarda fruktoz tüketen hayvanların testis lümeninde epitel vakuoller, dejenerasyon, olgunlaşmamış hücreler ve anormal tübül sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Ek olarak, fruktoz tüketen hayvanlarda kontrole kıyasla Sertoli hücre sayısının azaldığı ve anormal sperm miktarının arttığı bildirilmiştir [38]. Fruktoz diyetinin sperm kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 8 hafta süresince içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen Wistar sıçanların plazma trigliserit düzeyinin arttığı; vücut ve testis ağırlıklarının değişmediği gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen sıçanlarda sperm konsantrasyonları ve hareketli sperm miktarlarının azalarak hipogonadizm olduğu bildirilmiştir [39].

Fruktoz tüketiminin testiküler oksidatif stres üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yem içinde yüksek fruktoz (310 g/kg) içeren diyetle 5 hafta boyunca beslenmiş farelerin testiküler dokularında oksidatif stres belirteçleri incelenmiştir. Fruktoz tüketen hayvan plazma MDA ve testis katalaz aktivitesi artarken, glutatyon peroksidaz düzeyinde değişiklik gözlenmemiştir. Araştırmacılar, testiste artan

katalaz düzeyinin, fruktoz tarafından indüklenen oksidatif strese karşı savunma sisteminin bir parçası olarak aktive olduğunu ileri sürmüşlerdir [324]. Fruktozca zengin diyet (%60 yem içinde) ile 6 hafta boyunca beslenen Wistar sıçanların (120-150g'lık) testis dokusundaki MDA düzeyleri anlamlı bir şekilde artarken, glutatyon içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketimi kaynaklı testis ağırlığında azalma gözlemlenirken, özellikle Sertoli ve Leydig hücrelerinde GLUT1 ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmıştır [325]. Yüksek fruktozlu mısır şurubu (içme suyu içinde %20 oranında fruktoz içeren) 10 hafta boyunca beslenen Sprague-Dawley ratların testis dokusunda iNOS ve MDA düzeylerinin arttığı, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinin ise azaldığı saptanmıştır. Mısır şurubu tüketen grupta spermatogenez baskılanması sonucunda sperm sayısında azalmanın gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca, mısır şurubu diyetinin testis stromal dokuda hafif hiperemi ve ödemi tetikleyerek hayvanların testisinde hafif-orta derecede dejenerasyona neden olduğu saptanmıştır. Serum testosteron düzeyi azalma eğilimi gösterse de bu azalmanın istatistiki olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir [32]. Fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sekiz hafta boyunca içme suyu içinde %30 oranında fruktoz tüketen sıçanlarda testis ağırlığı ve serum testosteron düzeyinin arttığı saptanmıştır. Fruktoz diyetinin testiküler iNOS düzeyini artırarak inflamasyonu tetiklediği ve seminifer tübül nekrozu, atrofi ve dejeneratif değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz diyetinin testiküler glutatyon-S-transferaz ve süperoksit dismutaz düzeylerini baskılayarak oksidatif stresi artırdığı bildirilmiştir. [31]. Yüksek fruktoz diyetinin testiküler inflamatuvar faktörler üzerine etkisinin incelendiği çalışmamızda, 15 hafta süresince içme suyu içinde %20 fruktoz tüketiminin mitojenik protein IGF-1R ve inflamatuvar proteinlerden iNOS, NF-kB, p-NF-kB, IL-1 β ve TNF α düzeylerini artırdığını gösterdik. Ayrıca, fruktoz diyeti sonucu artan testiküler iNOS ve TNF α mRNA ekspresyonlarına, azalan testiküler serbest ve total testosteron düzeyinin eşlik ettiği saptanmıştır. Aynı çalışmadaki histopatolojik incelemelerde, fruktoz tüketen sıçanlarda vakuoler ve intratübüler dejenerasyonun yanı sıra, seminifer tübülde hücresel debris ve nekrotik materyal birikimi olduğu gösterilmiştir [21].

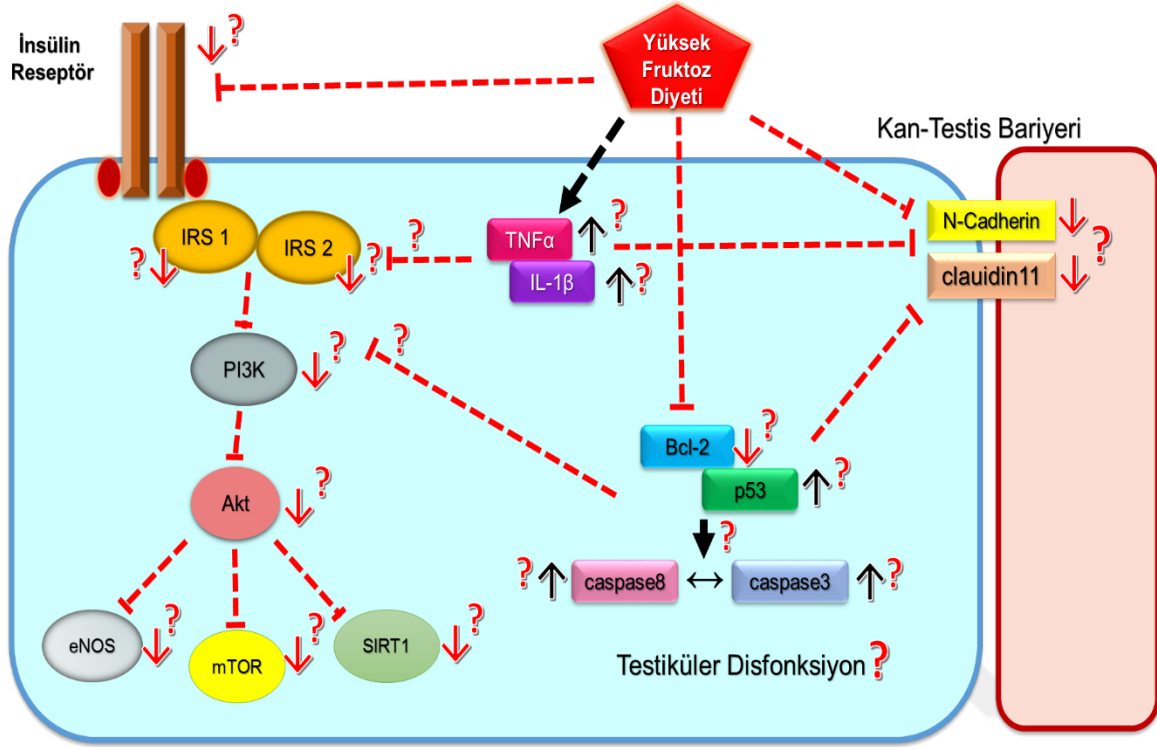
Diğer bir çalışmada, içme suyu içinde yüksek fruktoz (%30) ile 8 hafta süresince beslenen Wistar sıçanların biyokimyasal parametreleri ve testis dokusunun

histolojik değişiklikleri incelenmiştir. Fruktoz tüketerek hiperglisemik yapılan sıçanların testis dokusunda germ hücre kaybı ve seminifer tübülde yapısal bozukluklar oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen sıçanların seminifer tübül çapı ve Johnsen'in tübüler biyopsi skorlarının azalmasına karşın, tübüllerde apoptotik hücre sayısının arttığı tespit edilmiştir [25]. Fruktoz diyetinin sıçan epididim doku ve sperm parametreleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; 60 gün süresince içme suyu içinde fruktoz (%10 oranında) tüketen sıçanların epididimde az da olsa dejenaratif tübül gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen hayvanlarda apoptotik sperm yüzdesinin arttığı bildirilmiştir [326]. Yüksek fruktoz tüketiminin testiküler apoptotik yollar üzerine etkisinin incelendiği çalışmamızda, 15 hafta boyunca içme suyu içinde %20 fruktoz tüketen Wistar sıçanların testis anti-apoptotik Bcl-2 mRNA ve protein düzeylerinin azaldığını saptanmıştır. Apoptotik caspase3 mRNA ve protein düzeyi artış eğilimi gösterse de istatistiki olarak anlamlı ölçüde değişmemiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen sıçanların testis SIRT1 mRNA düzeyleri değişmezken, protein düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [33].

Erkeklerde metabolik sendrom hipogonadizmle birlikte seyretmektedir [11]. İnfertil erkeklerde görülen testosteron düzeyi düşüklüğünün insülin direnciyle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir [14, 16]. Ayrıca, sağlıklı spermilerin oluşumu, KTB bütünlüğünün korunması ve spermatogenezin sürdürülebilmesinde insülin sinyal yolağı proteinlerinin erkek reproduktif sistemde önemli rol oynadığı bilinmektedir [50, 54]. Yapılan çalışmalar, testiküler apoptozis ve inflamasyon artışının; testosteron düzeyini azalttığı ve KTB'nin yapısını bozarak sperm parametreleri üzerine olumsuz etkilere neden olduğunu göstermektedir [34-36]. Diyet içinde fruktoz tüketimi çeşitli dokularda insülin direnci, ROS, inflamatuvar sitokinler ve apoptotik faktörlerin artışına neden olmaktadır [3, 56].

Literatürde, fruktoz diyetinin KTB proteinleri ve testiküler insülin sinyal yolağı üzerine etkisini; inflamatuvar ve apoptotik faktörler ile ilişkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, erkek Wistar sıçanlarda, 15 hafta süre ile içme suyu içinde %20 oranında fruktoz tüketiminin: testiküler endokrin, inflamatuvar ve apoptotik parametreler ile KTB proteinleri ve insülin sinyal yolağı elamanları üzerine etkisi incelenmiştir. Fruktoz tüketiminin testiküler dokuda

inflamatuvar ve apoptotik yollarının aktivasyonu sonucu, KTB proteinleri ve insülin sinyal yolağı baskılanmasına yol açabileceğini araştırdığımız hipotezimizle ilgili gösterim Şekil 2.9'da sunulmuştur.



Şekil 2.9. Yüksek fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine olası etkileri

Siyah oklar artışı ve kırmızı oklar azalışı temsil etmektedir. Kırmızı soru işaretleri ve tireli oklar fruktozun olası etkilerini göstermektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Diyet

Bu çalışmanın deneysel protokolü Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Komitesinin, G.Ü. ET-19.019 kararı ile onaylanmıştır. Fruktozun testiküler dokudaki etkilerini incelemek için 3 haftalık erkek Wistar türü sıçanlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiştir. Hayvanlar, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (20-22 °C) ve nem kontrollü odalarda bakılmıştır. Sıçanlar bir haftalık uyum programına tabi tutulduktan sonra farklı gruplara ayrılıp, deneyler başlatılmıştır. Deneydeki hayvanlar standart sıçan yemi (%62 nişasta, %23 protein, %7 selüloz, %4 yağ ile mineral ve vitamin karışımı) ile beslenmişlerdir. Kontrol gruplarına içme suyu olarak çeşme suyu, fruktoz gruplarına ise çeşme suyunda çözülmüş %20 fruktoz verilmiştir. Standart yem, su ve fruktoz içeren çeşme suyu hayvanların serbestçe ulaşabildiği şekilde yerleştirilmiştir. Deney hayvanlarında metabolik sendrom modeli oluşturmak için içme suyu içerisinde %20 fruktoz 15 hafta sürecince verilmiştir. Bu süre sonunda hayvanlar ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) karışımı ile ötenazi edilmişlerdir.

Deney grupları:

1. Kontrol (K): Hayvanlara 4. haftadan itibaren 15 hafta boyunca içme suyu verilmiştir (n=8).
2. Fruktoz (F): Hayvanlara 4. haftadan itibaren 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir (n=8).

Fruktoz solüsyonun hazırlanması

İçme suyu içerisinde %20 (ağırlık/hacim) fruktoz içeren solüsyon haftada iki kez hazırlanıp ve +4 °C'de saklanmıştır. Solüsyon hayvanlara verilmeden önce çalkalanıp suluklarına eklenmiştir. Metabolik sendroma neden olan fruktoz

tüketiminin sıçanlarda hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hipertrigliseridemi oluşturabilecek doz ve süresi, laboratuvarımızda yapılan ön deneyler ve yayınlanmış çalışmalara dayanılarak belirlenmiştir [21, 56, 209].

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasallar (bu bölümde veya yöntemler içinde belirtilenler hariç) Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri, ABD)'den temin edilmiştir. Fruktoz Danisco Sweeteners OY (Finlandiya) 'den sağlanmıştır. Doku homejenizasyonu, protein düzeyi ölçümleri ve Western Blot yönteminde kullanılan Tris-baz, NaCl, NaOH, Na₂CO₃, metanol ve glisin Merck Millipore (Darmstadt, Almanya), EDTA, Bis-Akrilamid ve Tetrametiletilediamin (TEMED) Amresco Inc. (Texas, ABD), standart protein (PageRuler™ Prestained Protein Ladder, 10 to 180 kDa) Thermo Fisher Scientific (San Jose, ABD)'den sağlanmıştır. İmmunohistokimyasal çalışmalarda kullanılan poli-L-lizinli lamlar, Harris Hematoksilen, Eozin Y (alkolik), Primer Antibody Enhancer, HRP polymer, AEC Single Solution, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve su bazlı kapatma solüsyonu Thermo Fisher Scientific (San Jose, ABD)'den temin edilmiştir.

3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Doku, çözelti ve çeşitli kimyasalların saklanması amacıyla -85 °C derin dondurucu (Sanyo –MDF-U5186S), +4 °C buzdolabı (Arçelik) ve -20 °C derin dondurucu (Sanyo) kullanılmıştır. Çalışmalarda Eppendorf research plus (Hamburg, Almanya) marka mikro pipetler (0,5-1000µl), manyetik karıştırıcı (Nüve) ve ultra saf su cihazı (MINI pure-MES) kullanılmıştır. Hassas terazi olarak Shimadzu (Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Çözeltilerin pH ayarlaması MettlerToledo S220-K (Ohio, ABD) pH metre kullanılarak yapılmıştır. Western Blot yönteminde Firlabo vorteks (Lyon, Fransa), uzun süreli inkübasyon işlemleri için labnet orbit 1000 (Labnet Inc, ABD) sabit çalkalayıcı ve Western blot jel dökme modülü (Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, ABD) kullanılmıştır. Laboratuvar tipi kırık buz yapma makinası (IMS-100 Flake ice maker, Çin), soğutmalı mikrosantrifüj Himoc ve makrosantrifüj Sigma marka cihazlar kullanılmıştır. Ayrıca, Western Blot, Real Time-PCR ve patolojik incelemede kullanılan diğer cihazlar ilgili bölümde açıklanmıştır.

3.4. Sıçanların Ağırlık, Günlük Yem, Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı Hesaplanması

Deney süresi boyunca haftada iki kez sıçanların ağırlıkları tartılmıştır. Yem tüketimleri, haftada bir kez kafes yemliğindeki yemin ölçüldüğü başlangıç saati ile 24'ncü saatin sonundaki kalan yem arasındaki farkın hesaplanmasıyla saptanmıştır. Hayvan sayısı başına tüketilen günlük yem olarak hesaplanmıştır. Sıvı tüketimleri ağızlıkları sıvı sızdırmaz şişelere, başlangıç saatinde koyulan sıvı hacmi ile 24'ncü saatin sonundaki kalan sıvı miktarı arasındaki fark hesaplanarak saptanmıştır. Hayvan sayısı başına tüketilen günlük sıvı miktarı olarak hesaplanmıştır. Sıçanların kalori alımı, içme suyu içinde fruktoz tüketiminden 3.70 kkal/g, günlük yem tüketiminden 3.5 kkal/g yem değerleri dikkate alınarak hesaplanmıştır.

3.5. Plazma ve Testis Doku örneklerinin alınması

Deney süresi sonunda sakrifikasyon işleminden hemen sonrasında etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) tüplere alınan intrakardiyak kan örnekleri 10000 g'de 30 dakika santrifüj edilerek plazmalarına ayrıştırılmıştır. Ayrılan plazma pastör pipeti ile alınarak ependorf tüplerine konulup -85 °C'de dondurularak saklanmıştır. Testis dokuları izole edildikten sonra hızlı bir şekilde Krebs (solüsyon mM: 118 mM NaCl, 4.73 mM KCl, 1,2 mM KH₂PO₄, 1,2 mM MgSO₄, 2,5 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃, 11 mM Glukoz, 0,026 mM EDTA) solüsyonuna alınarak kanı uzaklaştırılmış ve fazla sıvı steril gazlı bezle alınmıştır. Daha sonra testisler tartılmıştır. İzole edilen testisin bir kısmı moleküler çalışmalar için eşit şekilde parçalanarak ependorf tüplere konulmuş, bir kısmı ise histolojik incelemeler için Bouin solüsyonunun içerisine alınıp oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.6. Biyokimyasal Parametreler

Plazma ve testis doku örneklerinde biyokimyasal analizler uygun enzimatik ve kolorimetrik kitler kullanılarak yapılmıştır. Testis dokusunda yapılacak biyokimyasal ölçümler için, alınan örneklerden 0,1 g tartılmıştır ve 0,1 M pH:7.4 fosfat tamponundan 1 ml ilave edilerek Next Advance Bullet Blender Storm

BBY24M-CE (Next Advance, Inc., New York, ABD) marka homojenizatörle Next Advance marka zirkonyum oksit boncuklar kullanılarak homojenize edilmiştir. Ardından homojenatlar 10000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek supernatantları toplanmıştır ve eşit miktarlara bölünerek -85 °C'de dondurularak saklanmıştır. Doku homojenatında protein düzeyleri, Brilliant Blue G boyası yöntemi ile Sigma marka ticari kitler kullanılarak (Saint Louis, Missouri, ABD), üretici firmanın kullanım talimatında belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Her bir doku ve kit seyreltme faktörünün belirlenmesi için standardizasyon yapılmıştır.

3.6.1. Plazma glukoz düzeyi ölçümü

Plazma örneklerinde glukoz düzeyi ölçümleri Roche Cobas (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) marka ticari kitler kullanılarak Roche Cobas C501 (Roche Diagnostics International Ltd., Rotkreuz, İsviçre) otoanalizöründe gerçekleştirilmiştir. Ölçümler üçer kez tekrarlanıp ortalamaları alındıktan sonra, sonuçlar mg/dl olarak verilmiştir.

3.6.2. Plazma trigliserit düzeyi ölçümü

Plazma örneklerinde trigliserit düzeyi Roche Cobas (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) tarafından üretilen enzimatik analiz kitleri kullanılarak, Roche Cobas C501 (Roche Diagnostics International Ltd., Rotkreuz, İsviçre) otoanalizöründe gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar mg/dl olarak verilmiştir.

3.6.3. Plazma insülin düzeyinin ölçümü

Sıçanların plazma insülin düzeyi rat insülin ELISA kiti (Mercodia, Uppsala, İsveç) kullanılarak üretici firma talimatlarına göre belirlenmiştir. Absorbans okuması ChemWell 2910 (Awareness Technology, Inc. Palm City, ABD) marka ELISA okuyucu cihazda yapılmıştır. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

3.6.4. Plazma östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü

Deney gruplarını oluşturan sıçanların plazma örneklerinde östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü SunRed (Shanghai, Çin) marka Rat ELISA kitleri kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına göre yapılmıştır. Absorbans okuması ChemWell 2910 (Awareness Technology, Inc. Palm City, ABD) marka ELISA okuyucu cihazda yapılmıştır. Plazma total testosteron düzeyi ng/L, plazma serbest testosteron ve östrojen düzeyi pg/L olarak verilmiştir.

3.6.5. Testiste östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü

Deney gruplarını oluşturan sıçanların testis doku homojenat örneklerinde östrojen, serbest ve total testosteron düzeyi ölçümü SunRed (Shanghai, Çin) marka Rat ELISA kitleri kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına göre yapılmıştır. Absorbans okuması spektrofotometrik mikropilaka okuyucu ChemWell 2910 (Awareness Technology, Inc. Palm City, ABD) marka cihazda yapılmıştır. Sonuçlar ng/g protein olarak verilmiştir.

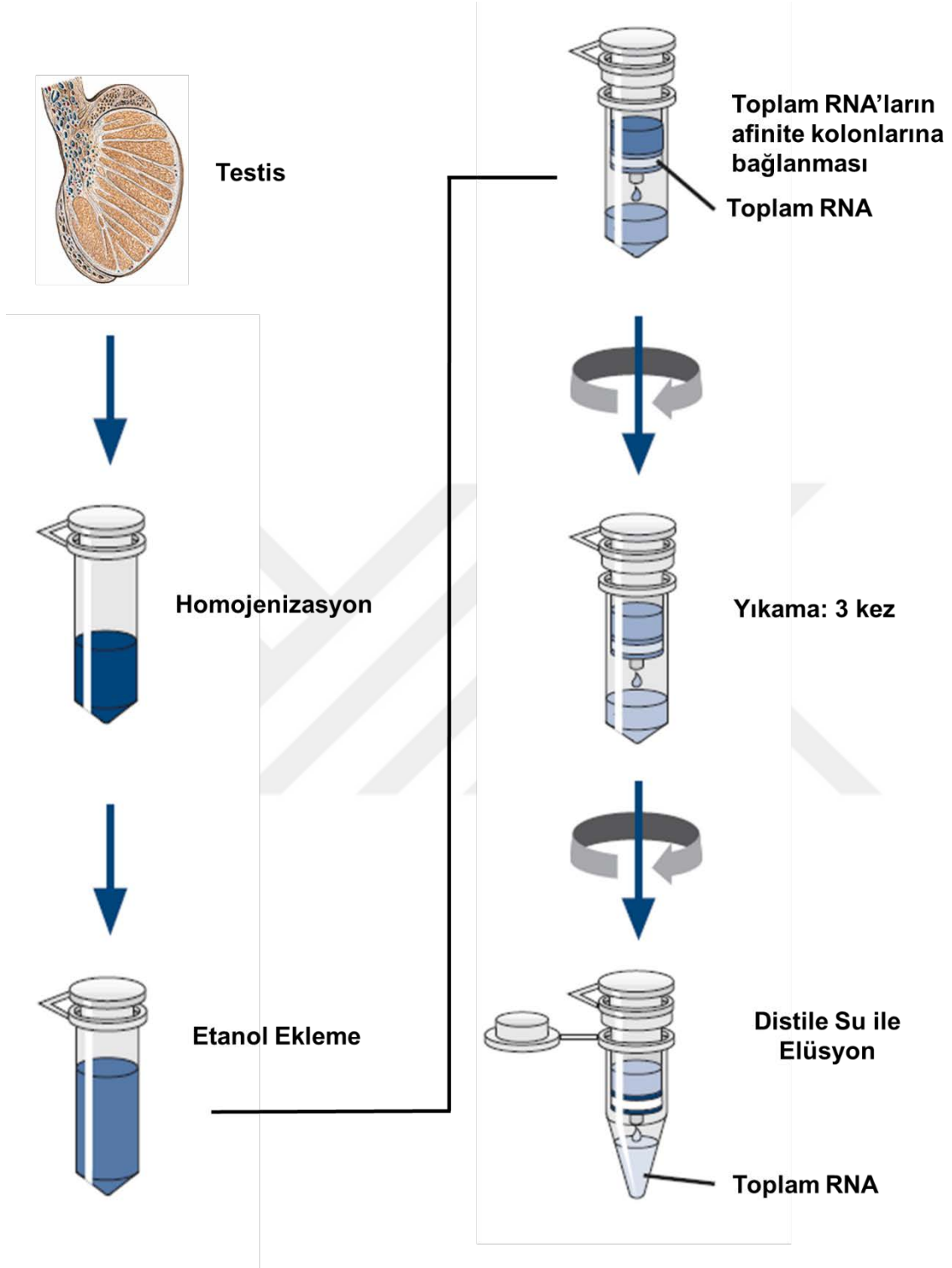
3.6.6 Testiste TNF α ve IL-1 β düzeyi ölçümü

Deney gruplarını oluşturan sıçanların testis doku homojenatlarında TNF α ve IL-1 β düzeyi ölçümü SunRed (Shanghai, Çin) marka ELISA kitleri kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına göre yapılmıştır. Absorbans okuması ChemWell 2910 (Awareness Technology, Inc. Palm City, ABD) marka spektrofotometrik mikropilaka okuyucuda yapılmıştır. Sonuçlar ng/g protein olarak verilmiştir.

3.7. Testis Gen Ekspresyonlarının kantitatif Real Time-PCR Yöntemi ile Tayini

3.7.1. Doku homojenizasyonu ve toplam RNA izolasyonu

Testis dokuları (~100 mg) kullanılarak toplam RNA izolasyonu Qiagen RNeasy Mini (Venlo, Hollanda) saflaştırma kiti kullanılarak üretici kılavuzuna uygun olarak izole edilmiştir (Şekil 3.1; Qiagen, Venlo, Hollanda). Testis dokuları 600 µl RLT tamponu ile homojenizasyon (doku parçalayıcı; Qiagen, Venlo, Hollanda) yapılmış ve santrifüj (10000 *g* hız, 25°C'de ve 15 dakika) edilmiştir. Steril mikrosantrifüj tüpe alınan süpernatanta, 600 µl %70'lik etanol ilave edilmiştir. Karışımın 700 µl'si RNeasy spin kolonuna aktararak santrifüj (10000 *g* hız, 1 dakika) edilmiştir. Toplama tüpündeki süzüntü dökülmüş ve etanol süpernatant karışımının kalanı spin kolonuna tekrar yüklenerek işlem yinelenmiştir. Süzüntü tekrar atılarak, kolonlara 700 µl RW1 tamponu eklenerek santrifüj (10000 *g*, 1 dakika) gerçekleştirilmiştir. Süzüntü döküldükten sonra 500 µl RPE tamponu eklenerek santrifüj (10000 *g*, 2 dakika) edilmiş ve bu işlem tekrarlanmıştır. Kolondaki filtrenin üstünde RPE tamponunun kalmadığından emin olmak için, toplama tüpleri değiştirilerek sadece santrifüj (10000 *g*, 1 dakika) işlemi yapılmıştır. En son aşamada kolonlar yeni eppendorf tüplere (DNase ve RNase içermeyen) konulmuştur ve 50 µl steril su eklenerek santrifüj (10000 *g*, 1 dakika) edilen RNA'lar kolonlardan izole edilmiştir. Elde edilen toplam RNA'ların konsantrasyon ve bütünlük tayininin yanı sıra RNA ve protein kontaminasyon analizleri için MultiScanGo spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, San Jose, ABD) ile 260 nm ve 280 nm dalga boyunda ölçümler yapılmıştır. Hesaplanan spektrofotometrik OD₂₆₀/OD₂₈₀ oranına göre sonuç 1,80'in altında ise protein kontaminasyonu veya nükleik asit kirliliği varlığını; 2,10'un üstünde olması nükleik asit kontaminasyonu veya protein azlığı sonucuna varılabilir. Spektrofotometrik OD₂₆₀/OD₂₈₀ oranları 1,90-2,00 arasında olan, izole edilmiş toplam RNA'ların konsantrasyonları 260nm'deki dalga boyundan µg/ml biriminde hesaplanmıştır. Elde edilen RNA'lar -85°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Toplam RNA izolasyon protokolü

3.7.2. cDNA sentezi

Elde edilen RNA'lar, tek zincirli komplementer DNA (cDNA) sentez kiti (Thermo Fisher Scientific; San Jose, ABD) kullanılarak cDNA'ya ters transkribe edilmiştir. Yönteme göre 2 µg toplam RNA'ya 1 µl oligo(dT)18 primer (100 µM) eklenip, hacim nükleaz içermeyen dietil pirokarbonatlı (DEPC) steril distile suyla 12 µl'ye tamamlanmıştır. Örnek solüsyonu yavaşça karıştırılıp 70 °C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra buz üzerinde soğutuldu. Sonra 4 µl 5X M-MuLV reaksiyon tamponu, 1 µl RiboLock™ (20 U/µl) RNaz inhibitörü ve 2 µl dNTP karışımı (10 mM) eklendikten sonra tüpler 37 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Son olarak, 1 µl M-MuLV Revers Transkriptaz (200 U/µl) eklenerek cDNA sentez reaksiyonu Bioneer Thermal Cycler (Daejeon, Güney Kore) yardımı 1 saat süre ile 42 °C'de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri ters transkriptaz denatürasyonu için 70 °C'de 5 dakika bekletildikten sonra, buz üzerinde soğutulup kantitatif gerçek zamanlı polimer zincir reaksiyonu (qRT-PCR) çalışmaları için -85 °C'de saklanmıştır.

3.7.3. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) yöntemiyle *ir-β*, *irs-1*, *irs-2*, *pi3k*, *akt*, *enos*, *mtor*, *sirt1*, *caspase3* ve *bcl-2* ifadelerinin belirlenmesi

Testis örneklerinde *ir-β*, *irs-1*, *irs-2*, *pi3k*, *akt*, *enos*, *mtor*, *sirt1*, *caspase3* ve *bcl-2* genlerine ait mRNA miktarları, SYBR Green I reaksiyon kimyası ve qRT-PCR ile Çizelge 3.1'de belirtilen primer çiftleri kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen cDNA içerisindeki istenilen mRNA karşılığının yükseltgenebilmesi için 2,5 µl SYBR Green Mastermix (iTaQ™ Universal SYBR® Green Supermix; Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) 1 µl ileri, 1 µl geri primerlerle (her biri 2 µM olan) karıştırıldıktan sonra üzerine 0,5 µl cDNA eklenmiştir. 95°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonunun ardından, 94°C'de 15 saniye denatürasyon, 58°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 30 saniye uzatma aşaması 40 kez tekrarlanırken, her döngünün bağlanma aşamasından sonra meydana gelen floresan ışımaya Roche LightCycler480 II (Mannheim, Almanya) cihaz yardımı ile saptanmıştır. Ölçümlerde cDNA örnekleri mikropılaka kuyucuklarına her bir örnek için üçer tekrarlı konulmuştur. Örneklerdeki mRNA ifadelerinin belirlenmesi, her bir yükseltme için

kritik eşik döngü sayısı (C_P) değerleri ölçülerek kullanılan standartlar ile kalibrasyon eğrileri oluşturularak hesaplanmıştır. Dokular içerisinde aranan gen ekspresyon düzeyleri *gapdh* genine (Çizelge 3.1) oranlanarak normalize edilmiştir. Ayrıca, PCR ürünlerinin ve olası kontaminasyonun kontrolü için deney sonunda ürünler üzerine melt analizi gerçekleştirilerek ürünlerin saflıkları kontrol edilmiştir. Reaksiyonda genomik DNA kontaminasyonu olup olmadığı herhangi bir cDNA ya da DNA içermeyen kör reaksiyon tüpleri kullanılarak kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.1. Real Time-qPCR deneylerinde kullanılan primer çiftler (*ir-β*, *irs-1*, *irs-2*, *pi3k*, *akt*, *enos*, *mtor*, *sirt1*, *caspase3*, *bcl-2* ve internal standart *gapdh*)

Gen	İleri Primer Dizi (5'→3')	Ters Primer Dizi (5'→3')
<i>ir-β</i>	GTGCTGCTCATGTCCTTAGA	AATGGTCTGTGCTCTTCGTG
<i>irs-1</i>	GCCAATCTTCATCCAGTTGC	CATCGTGAAGAAGGCATAGG
<i>irs-2</i>	CTACCCACTGAGCCCAAGAG	CCAGGGATGAAGCAGGACTA
<i>pi3k</i>	ATGCAACTGCCTTGACATT	CGCCTGAAGCTGAGCAACAT
<i>akt</i>	GAAGAAGAGCTCGCCTCCAT	GAAGGAGAAGGCCACAGGTC
<i>enos</i>	TGCACCCTTCCGGGGATTCT	GGATCCCTGGAAAAGGCGGT
<i>mtor</i>	GCAATGGGCACGAGTTTGT	AGTGTGTTACCAGGCCAAA
<i>sirt1</i>	CGGTCTGTCAGCATCATCTTCC	CGCCTTATCCTCTAGTTCCTGTG
<i>caspase3</i>	GAGCTTGGAACGCGAAGAAA	CTCTGAGGTTAGCTGCATCG
<i>bcl-2</i>	TTCCTGCATCTCATGCCAAG	TACCAATAGCACTTCGCGTC
<i>gapdh</i>	TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG	TCCTTGGAGGCCATGTGGGCCAT

3.8. Testis Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile Tayini

3.8.1. Doku homojenizasyonu ve toplam protein miktar tayini

Sıvı azot ile dondurulmuş ve -85°C'de stoklanmış testis dokuları (~100 mg) Tris 50 mM (pH 7:4), NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, %0,1 h/h Triton X-100, %0,26 (a/h) sodyum deoksikolat, 50 mM sodyum florür, 0,1 mM sodyum ortovanadat ve 50 µg/ml fenilmetilsülfonil florür (PMSF) içeren çözelti içinde homojenize (Tissue

RuptureTM, Qiagen, ABD) edilmiştir. Homojenatlar daha sonra santrifüjleme yöntemiyle (1500 g'de 15 dakika) sitoplazmik ve nükleer fraksiyonlarına ayrılmıştır [327]; süpernatant, toplam protein tayini ve IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, p-Akt, eNOS, p-eNOS, mTOR, SIRT1, claudin11, N-cadherin, GLUT5, Bcl-2 ve caspase3 protein ekspresyonlarının Western Blot yöntemi ile belirlenmesi için kullanılmıştır.

Testis doku homojenatlarının toplam protein konsantrasyonları Lowry yöntemine [328] göre saptanmıştır. Protokole göre mikropilaya kuyucuklarında 40 µl 50 kat seyreltilen homojenatlar ve standart sığır serum albümini (BSA) çözeltileri (derişimleri 0,05-1,00 mg/ml arasında değişen), 200 µl Lowry ACR reaktifi [Reaktif I (%2 a/h $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) Reaktif II (%2 a/h Na-K tartarat) ve Reaktif A (0,1 N NaOH içinde %2 a/h Na_2CO_3)] ile oda sıcaklığında ve karanlıkta 10 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda kuyucuklara 20 µl Folin reaktifi (1N) eklenerek 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilen örneklerin renk yoğunluğu 660nm dalga boyunda ölçülerek (MultiScanGo; Thermo Fisher Scientific, San Jose, ABD); oluşturulan standart grafik yardımıyla protein miktarları saptanmıştır.

3.8.2. Western Blot yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

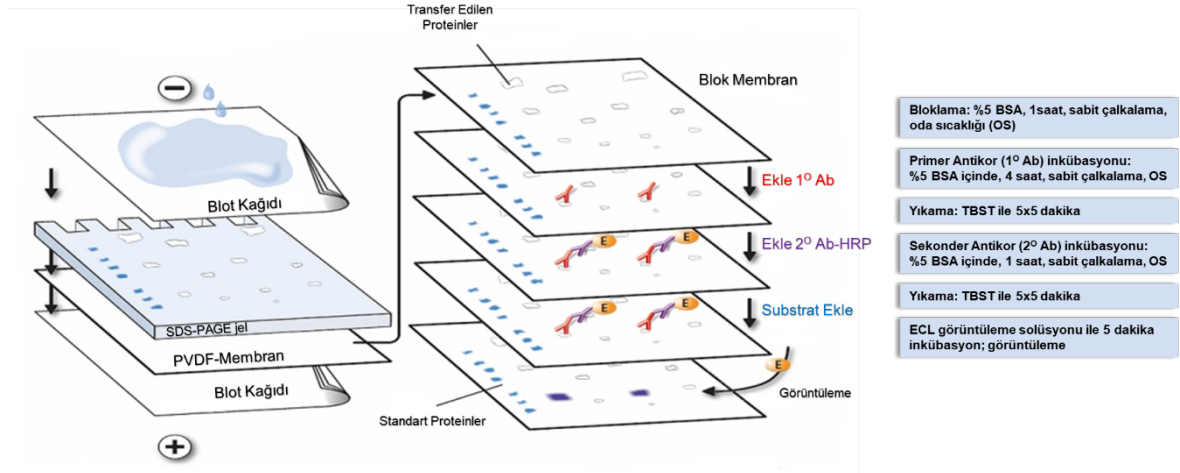
Elektroforez tamponu için gerekli kimyasallar (3 g tris, 14,4 g glisin ve 1 g sodyum dodesil sülfat; SDS) 1 L distile su içerisinde çözülüp pH 8,3'e ayarlanmıştır. Transfer çözeltisi için 3,028 g tris ve 14,41 g glisin tartılarak distile suda çözüldükten sonra 200 ml metanol eklenmiştir. TBS-T (Tris Buffered Saline-Tween) tamponu için NaCl (29,02 g) ve Tris-baz (2,4245 g) distile suda çözüldükten sonra pH 7,4'e ayarlanmıştır ve hacim 1 L'ye tamamlanarak 0,5 ml Tween 20 eklenmiştir. Tris 0,5 M (pH:6,8) ve 1,5 M (pH:8,8) çözeltileri hazırlamak için gerekli miktar tris tartılarak distile suda çözülüp; uygun pH değeri ayarlanmıştır. Uygun poliakrilamid jelleri hazırlamak için kullanılan oranlar ve sıralama Çizelge 3.2'de gösterilmiş olup; amonyum persülfat (APS) ve TEMED solüsyona en son eklenmiştir.

Çizelge 3.2. Poliakrilamid jel hazırlanışı

	%4'lük Sıkıştırıcı jel (Üst jel) -2 Jel için-	%12'lik Ayırıcı jel (Alt jel) -2 Jel için-
Distile su	6,1 ml	3,4 ml
Akrilamit/Bis (%30 T, %2,67 C)	1,3 ml	4 ml
1,5 M Tris, pH 8,8	-	2,5 ml
0,5 M Tris, pH 6,8	2,5 ml	-
SDS (%10 a/h)	0,1 ml	0,1 ml
APS (%10 a/h)	50 µl	50 µl
TEMED	10 µl	5 µl

3.8.3. Western Blot yöntemi ile IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, p-Akt, eNOS, p-eNOS, mTOR, SIRT1, claudin11, N-cadherin, GLUT5, Bcl-2 ve caspase3 protein ölçümü

IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, p-Akt, eNOS, p-eNOS, mTOR, SIRT1, claudin11, N-cadherin, GLUT5, Bcl-2 ve caspase3 proteinlerinin Western Blot ile tayini için testis doku homojenatlarından 20-100µg toplam protein, SDS-PAGE yöntemi ile Mini Protean Tetra elektroforez cihazı (Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, ABD) kullanılarak birbirlerinden ayrılmıştır. Yönteme göre, homojenatlar ve Laemmli yükleme tamponu (62,5 mM Tris-HCl, pH 6,8, %25 gliserol, %2 SDS, %0,01 bromofenol mavisi, %0,05 (h/h) β-merkaptoetanol) 1:1 oranında karıştırılarak 5 dakika süresince 95 °C'de ısıtıcı blokta (TDB-120, Biosan, Türkiye) inkübe edilip; %4'lük sıkıştırıcı ve %10-12'lik ayırıcı poliakrilamid jel kuyucuklarına yüklenmiştir. Protein örnekleri güç kaynağı aracılığıyla (Thermo Fisher Scientific, San Jose, ABD) sabit voltajda (200V) Mini Protean Tetra elektroforez cihazı kullanılarak SDS-PAGE yöntemi ile birbirlerinden ayrılmıştır. Ardından ayrılan proteinler Western Blot tekniği ile polivinilidin florür (PVDF; Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) membrana aktarılmıştır. Aktarma işlemi (blotlama) Trans-blot TurboTM (Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) cihazı kullanılarak kasetler Şekil 3.2'de gösterildiği gibi transfer tamponuyla yerleştirildikten sonra, yarı kuru ortamda 1 amper akım ile 30 dakika veya 100 kDa'un üzerindeki proteinler için 45 dakika boyunca uygulanmıştır. Şekil 3.2.'de Westen-Blot yönteminin basamakları şematize edilmiştir [208, 213].



Şekil 3.2. Western-Blot yöntemi ile protein düzeylerinin belirlenmesi

Çalkalayıcı üzerinde Western Blot membranları, TBS-T ile üç kez yıkandıktan sonra membran üzerinde protein içermeyen bölgelerin kapanması sağlamak için TBS-T içinde hazırlanmış %5'lik BSA solüsyonu ile bir saat muamele edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan antikorlar: IR [anti-IR β rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology (sc-711): Dallas, ABD, 1/1000], IRS-1 [anti-IRS-1 rabbit IgG, Abcam (ab131487): Cambridge, İngiltere, 1/1000], IRS-2 [anti-IRS-2 rabbit IgG, Abcam (ab134101): Cambridge, İngiltere, 1/1000], PI3K [anti-PI3K rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology (sc-423): Dallas, ABD, 1/1000], Akt [anti-Akt rabbit IgG, Abcam (ab179463): Cambridge, İngiltere, 1/5000], p-Akt [anti-Akt (fosfo Y315 + Y316 + Y312) rabbit IgG, Abcam (ab131443): Cambridge, İngiltere, 1/2000], eNOS [anti-eNOS mouse IgG, Abcam (ab76198): Cambridge, İngiltere, 1/500], p-eNOS [anti-eNOS (fosfo Ser113) rabbit IgG, Cell Signaling Technology: Beverly, ABD, 1/500], mTOR [anti-mTOR rabbit IgG, Cell Signaling Technology (2972S): Beverly, ABD, 1/500], SIRT1 [anti-SIRT1 rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology (sc-15404): Dallas, ABD, 1/500], claudin11 [anti-claudin11 rabbit IgG, Abcam (ab175236): Cambridge, İngiltere, 1/5000], N-cadherin [anti-N-cadherin rabbit IgG, Abcam (ab18203): Cambridge, İngiltere, 1/5000], GLUT5 [anti-GLUT5 rabbit IgG, Boster Biological Technology (PB9960): Pleasanton, ABD, 1/1000], Bcl-2 [anti-Bcl-2 rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology: Dallas, ABD, 1/1000] ve caspase3 [anti-caspase3 rabbit IgG, Sigma (C8487): Missouri, ABD, 1/1000]. Primer antikorlarla 4 °C'de bir gece inkübe edilen membranlar TBS-T tamponu ile çalkalayıcı üzerinde beş kez beş dakika yıkandıktan sonra horseradish peroksidaz (HRP) ile konjuge

edilmiş ikincil antikorlar [Goat anti rabbit IgG-HRP, Abcam (ab6721): Cambridge, İngiltere, 1/10000 veya Goat anti mouse IgG-HRP, Santa Cruz Biotechnology (sc-2005): Dallas, ABD, 1/10000] ile bir saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. TBS-T tamponu ile 5 dakika beş kez çalkalayıcı üzerinde yıkandıktan sonra Clarity™ Western ECL Substrate (ECL:Enhanced Chemiluminescence; Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) görüntüleme solüsyonu ile 5 dakika inkübe edilen membranların kemiluminesan görüntüleri ChemiDoc™ MP görüntüleme sistemi (Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) kullanılarak alınmıştır. Aynı zamanda normalizasyon için aynı membranlar beş kez TBS-T ile yıkandıktan sonra GAPDH antikoru [anti-GAPDH rabbit IgG, Abcam (ab37168): Cambridge, İngiltere, 1/2000 veya 1/5000] ile 2 saat muamele edilmiştir ve sekonder antikor uygulamasından sonra yukarıda belirtildiği gibi bant görüntüleri elde edilmiştir. Image Lab 5.1 Programı (Bio-Rad Laboratories, Hercules, ABD) ile bant yoğunlukları ölçülen proteinlerin ekspresyonları, GAPDH proteini ile oranlanarak veriler normalize edilmiştir.

3.9. Testis Dokusunda Histopatolojik ve İmmunohistolojik İncelemeler

3.9.1. Histopatolojik incelemeler

Doku örnekleri Bouin solüsyonunda 3 gün süreyle tespit edilmiştir. Fiksatifin dokuya iyi bir şekilde nüfus etmesi için testis tunica albuginea tabaksı insülin iğnesiyle 4 farklı kutuptan delinmiştir. Bouin solüsyondan arındırmak için bir gece çeşme suyunda yıkanan dokular sırasıyla %70, %80, %90 ve mutlak etanolde 45 dakika bekletilmiştir. Sonrasında 15 ve 30 dakika ksilen inkübasyonu yapılan dokular, iki saat boyunca parafin dolu kap içinde 65 °C'lik etüve konulmuştur. Etüvden çıkarılan dokular Leica EG1150 (Leica Microsystems, Nussloch, Almanya) yardımıyla parafin bloklara gömülmüştür. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında Mikrotom (Leica RM 2155; Leica Microsystems, Nussloch, Almanya) cihazı kullanılarak L-lizinli lamalar üzerin seri kesitler alınarak histopatolojik incelemeler için rutin hematoksilin-eosin (H&E; Biotica, İtalya) ile yöntemine uygun olarak boyanmıştır [329]. İncelemede araştırma mikroskobu (Eclipse E600, Nikon, Japan) ve görüntü analiz programı (NIS Elements 4.2, Nikon, Japan)

birlikte kullanılmıştır. Ayrıca, boyanan kesitlerde genel histolojik özellikler, nekrotik, inflamatuvar ve olası patolojik değişiklikler incelenmiştir.

3.9.2. İmmunohistokimyasal çalışmalar

İmmunohistokimyasal inceleme için; parafin bloklara gömülü testis dokusundan 5 µm kalınlıktaki seri kesitler yapışkanlı lamlara alınıp avidin biotin kompleks peroksidaz (ABC-P) kiti kullanılarak üreticinin (UltraVision Large Detection System; Thermo Scientific, Waltham, ABD) protokolüne göre boyanmıştır. Kesitler kesilende bekletilerek deparafinize; azalan etanol serilerinden (her biri beşer dakika) geçirilerek rehidrate edilmiştir. Bu rehidratasyon süreci sonunda, lamlar öncelikle antijenlerin açığa çıkarılma işlemi için kullanılan sitrat buffer-EDTA karışımı (pH 6.0) kullanılarak mikrodalga fırında (750 W) 20 dakika inkübe edildikten sonra 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için kesitler %3'lük H₂O₂-metanol çözeltisinde 20 dakika inkübe edilmiştir. Testisteki spesifik olmayan protein aktivitelerinin inhibe edilmesi için kesitler 15 dakika protein blokaj solüsyonunda (HRP/DAB-ABC Detection IHC kit, ab64264) inkübe edilmiştir. Kesitler üzerine p53 [anti-p53 rabbit IgG, Abcam (Ab131442): Cambridge, İngiltere, 1/300] ve caspase8 [anti- Caspase8 rabbit IgG, Abcam (Ab227430): Cambridge, İngiltere, 1/400] primer antikorlar damlatılıp; olası evaporasyonu engellemek için parafilm ile kapatıldıktan sonra üretici firmanın protokolüne uygun olarak +37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kesiteler protein blokaj uygulaması hariç, çalışmanın her basamağında ikişer kez 5 dakika phosphate buffered saline (PBS) ile yıkanmıştır. Negatif kontrollerde birincil antikor yerine PBS kullanılarak antikorun protokolüne uygun boyanmıştır. Kesitler bir kromojen olan 3-amino-9-etilkarbazol solüsyonu ile inkübe edilip, son olarak zıt boyama amacıyla Gill Hematoksilen (Thermo Scientific, Waltham, ABD) ile boyanarak su bazlı kapatma solüsyonu (Thermo Scientific, Waltham, ABD) ile kapatılmıştır. Kesitlerdeki immunoreaktivite ışık mikroskobu (Leica, DM 4000B, Nussloch, Almanya) ve kamera ataçmanı (Leica DFC-280, Nussloch Almanya) aracılığıyla değerlendirilmiştir. İmmunoreaktivitenin tespiti için sonuçlar sırasıyla hafif boyanma (%10'undan az), orta şiddette boyanma (%10 ile %50 arasında) ve güçlü boyanma (%50'sinden fazlası) olarak değerlendirilmiştir.

3.10. İstatistiksel Analiz

Elde edilen bütün sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Bütün deneylerde istatistik analiz olarak Student t testi veya tek yönlü ANOVA parametrik testi ve ardından Bonferroni post hoc analizi ile kullanılmıştır. Real Time-qPCR sonuçları Pair Wise Fixed Reallocation Randomization Testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Real Time-PCR ve Western Blot sonuçlarında fruktoz grupları kontrol grubu katlarına göre belirlenerek verilmiştir. İstatistiksel karşılaştırmalarda ve grafiklerin çiziminde GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, Amerika) programı kullanılmıştır. P değeri 0.05'den küçük ise ($p < 0,05$), bulgu istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Testis ve Vücut Ağırlık, Günlük Kalori Alımı, Yem ve Su Tüketim Miktarları

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere, fruktoz tüketen sıçanların vücut ağırlığında kontrole göre istatistiki olarak değişmediği saptanmıştır. Hayvanların günlük yem ve sıvı miktarları karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre fruktoz tüketen gruplarda belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir. Hayvanların günlük kalori alımı karşılaştırıldığında ise, kontrol grubuna göre fruktoz tüketen grupta belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere, fruktoz tüketimi sıçan sağ testis ağırlığını anlamlı bir şekilde azaltırken, sol testis ağırlığında herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Sıçanlarda sağ ve sol testis ağırlığının, vücut ağırlığına (va: 100g’lık hayvana göre) yüzdesi gruplar arasında değişmemiştir.

Çizelge 4.1. Sıçanların testis ve vücut ağırlık, günlük kalori alım, yem ve su tüketim miktarları

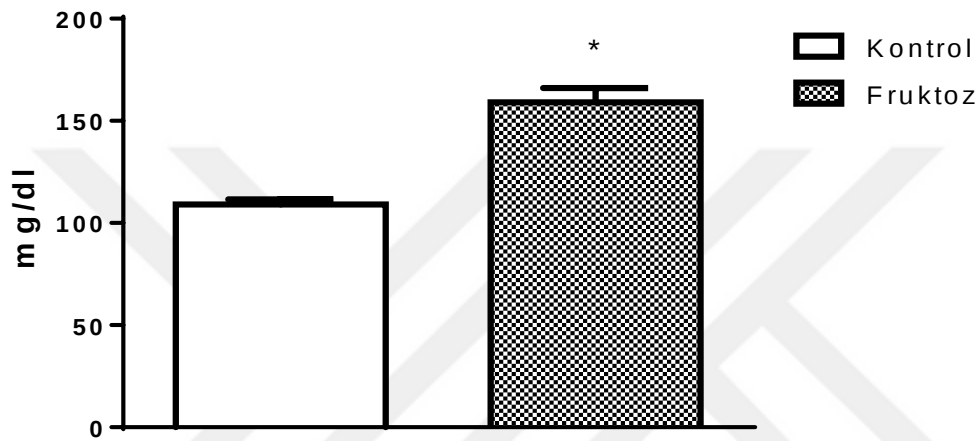
Gruplar	Kontrol	Fruktoz
Terminal Vücut Ağırlığı (g)	374.2 ± 11	375 ± 15
Tüketilen Yem Miktarı (g/gün)	20.5 ± 1	15.3 ± 0.3*
Tüketilen Sıvı Miktarı (ml/gün)	48.7 ± 1.5	39 ± 1.1*
Tüketilen Fruktoz Mitarı (g/gün)	-	7.8 ± 0.1
Alınan Kalori Miktarı (kkal/gün)	71.8 ± 3.5	85.5 ± 3.3*
Fruktozdan Alınan Kalori Miktarı (kkal/gün)	-	28.9 ± 0.9
Sağ Testis Ağırlığı (g)	1.75 ± 0.06	1.56 ± 0.04*
Sol Testis Ağırlığı (g)	1.73 ± 0.09	1.56 ± 0.03
Sağ Testis Ağırlığı/Vücut Ağırlığı oranı (g/100g va)	0.47 ± 0.03	0.42 ± 0.01
Sol Testis Ağırlığı/Vücut Ağırlığı oranı (g/100g va)	0.47 ± 0.03	0.42 ± 0.01

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n≥6, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2. Biyokimyasal Parametreler

4.2.1. Plazma glukoz düzeyleri

Şekil 4.1’de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı plazma glukoz düzeyini anlamlı bir şekilde artırmıştır.

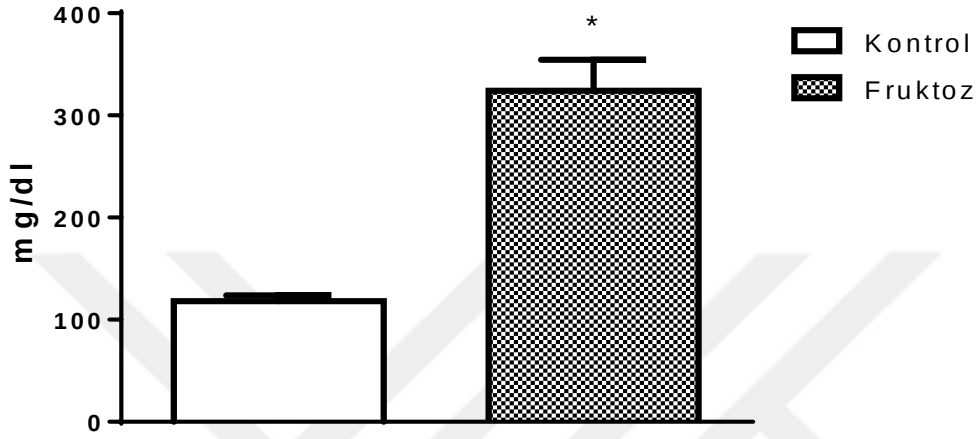


Şekil 4.1. Plazma glukoz düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2.2. Plazma trigliserit düzeyleri

Diyet içinde yüksek fruktoz tüketen sıçan plazma trigliserit düzeylerini kontrole kıyasla belirgin olarak artırdığı Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

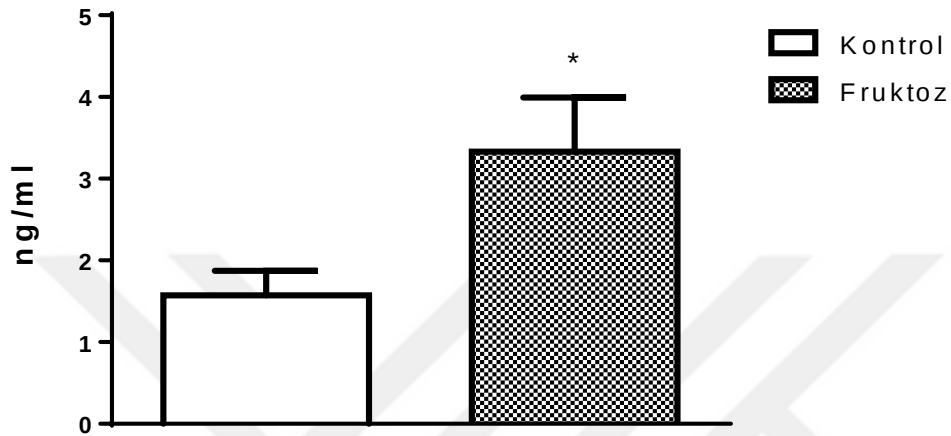


Şekil 4.2. Plazma trigliserit düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2.3. Plazma insülin düzeyleri

Hayvanların plazma insülin düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre fruktoz tüketen grupta belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3).

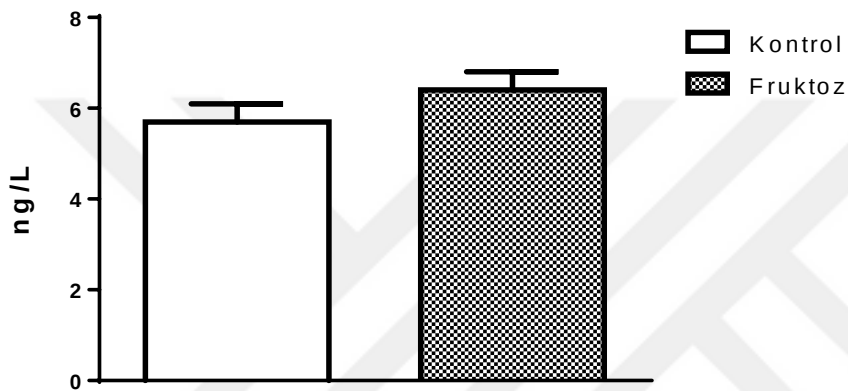


Şekil 4.3. Plazma insülin düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

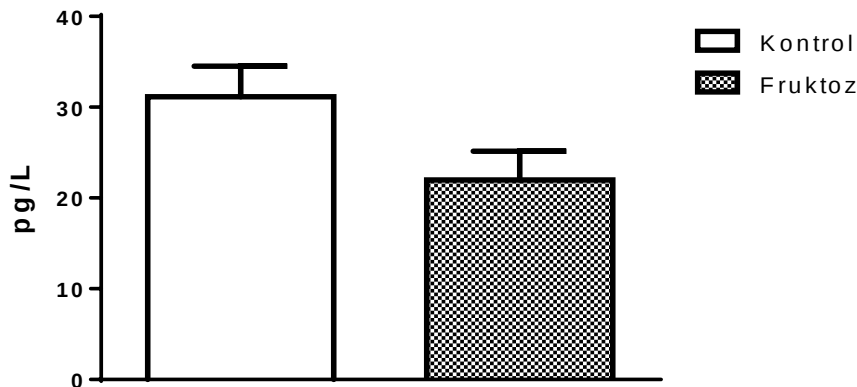
4.2.4. Plazma total ve serbest testosteron düzeyleri

Sıçanların plazma total testosteron düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrole göre fruktoz tüketen grupta herhangi bir değişiklik olmadığı görülmüştür (Şekil 4.4). Ayrıca, diyet içinde fruktoz verilen sıçanların plazma serbest testosteron düzeylerinde azalma eğilimi olsa da kontrole göre anlamlı bir fark oluşturmadığı saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Plazma total testosteron düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

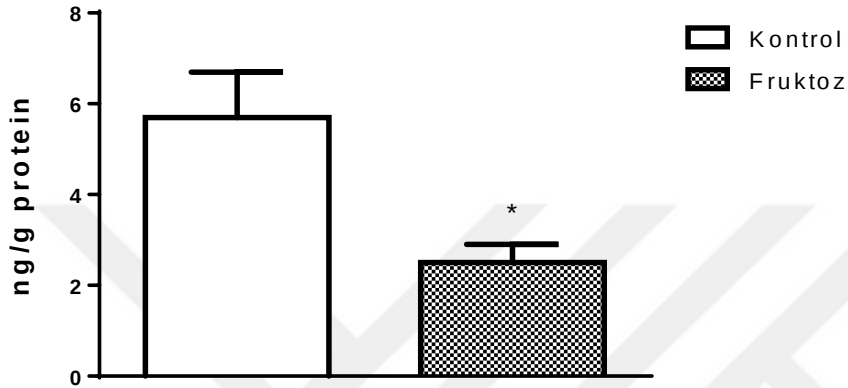


Şekil 4.5. Plazma serbest testosteron düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

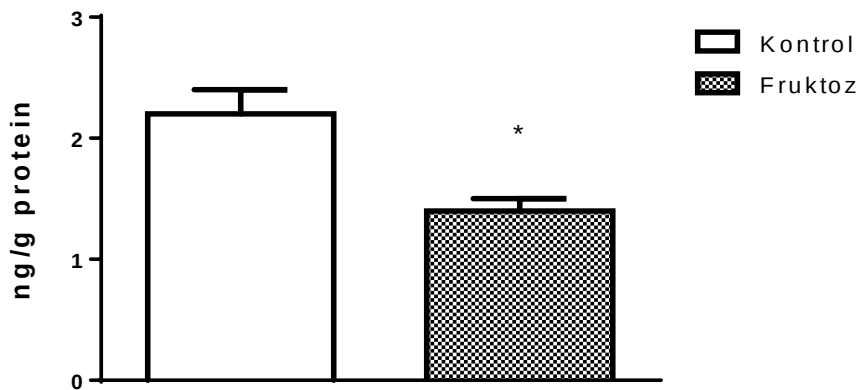
4.2.5. Testis total ve serbest testosteron düzeyleri

Sıçan testis dokusu örneklerinde testosteron düzeyleri incelendiğinde, fruktoz tüketiminin total ve serbest testosteron düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).



Şekil 4.6. Testis total testosteron düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

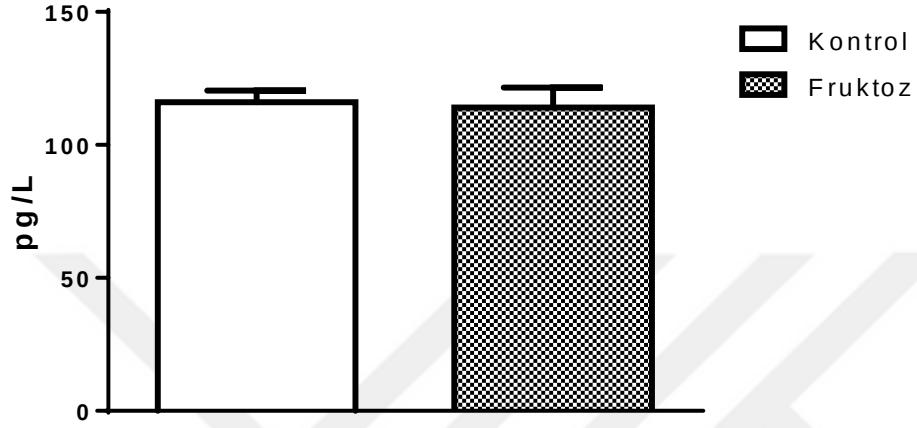


Şekil 4.7. Testis serbest testosteron düzeyleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. $n=8$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

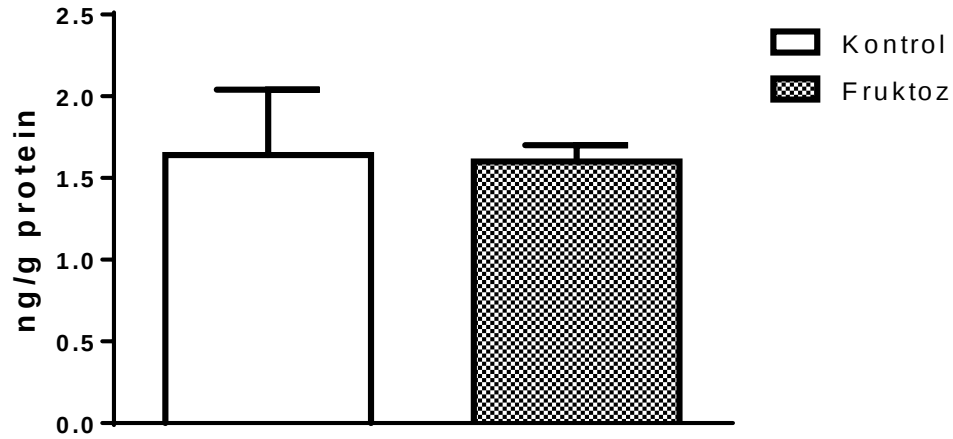
4.2.6. Plazma ve testis östrojen düzeyi

Fruktoz tüketimi sonucu, plazma ve testis östrojen düzeylerinde, kontrole kıyasla herhangi bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9).



Şekil 4.8. Plazma östrojen düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

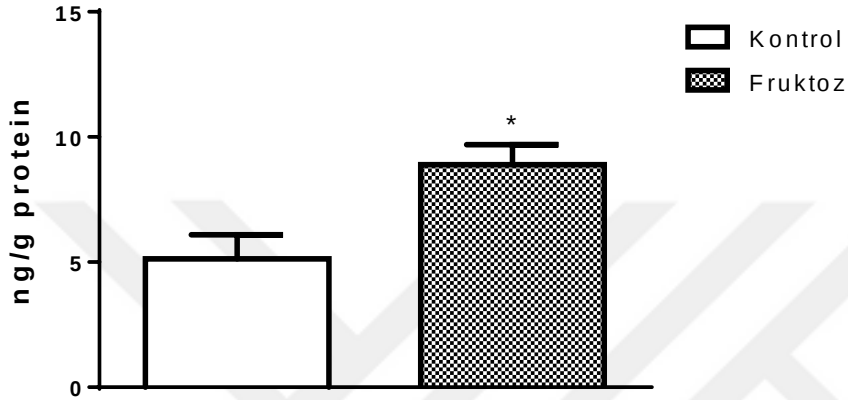


Şekil 4.9. Testis östrojen düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8.

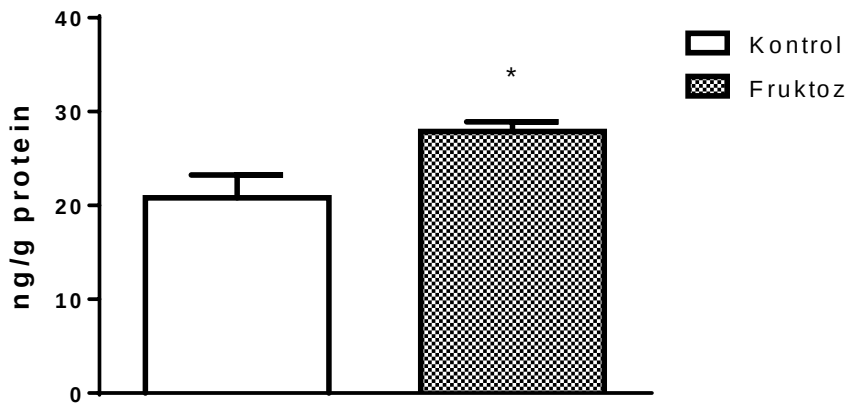
4.2.7. Testis TNF α ve IL-1 β düzeyleri

Şekil 4.10'da görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı testis TNF α miktarını anlamlı bir şekilde artırmıştır. Ayrıca, fruktoz alınması IL-1 β düzeyini kontrole kıyasla belirgin olarak artırdığı Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Testis TNF α düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



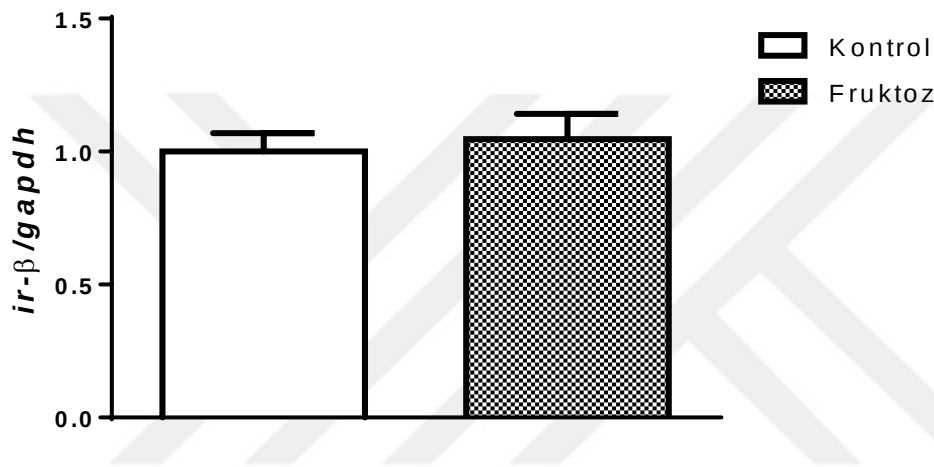
Şekil 4.11. Testis IL-1 β düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=8, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3. Testis Gen Ekspresyonlarının Real Time-qPCR Yöntemi ile Ölçümü

4.3.1. Sıçan testis dokusunda *ir-β* mRNA ekspresyon düzeyi

Real Time-qPCR yöntemiyle sıçan testisinde *ir-β* mRNA ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Fruktoz tüketiminin kontrole kıyasla *ir-β* mRNA ekspresyon düzeyini değiştirmedeği Şekil 4.12’de gösterilmiştir.

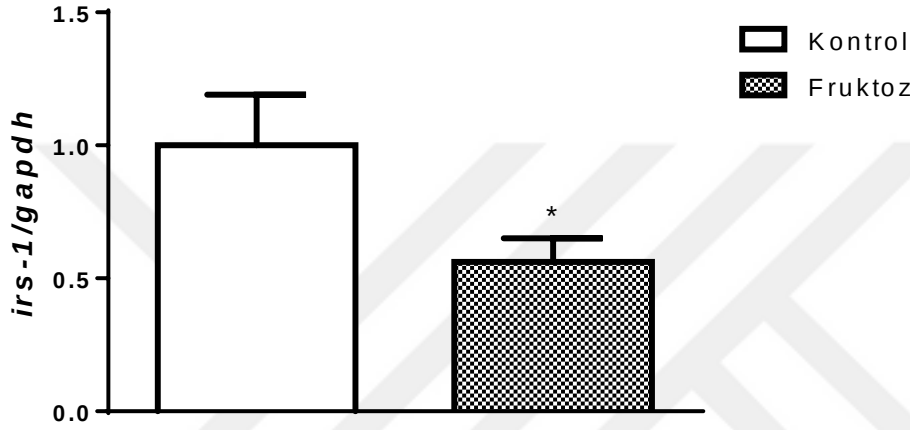


Şekil 4.12. Testis örneklerinde *ir-β* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *ir-β* ekspresyon düzeyi *gapdh*’e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.3.2. Sıçan testis dokusunda *irs-1* mRNA ekspresyon düzeyi

Real Time-qPCR yöntemiyle sıçan testis dokusunda *irs-1* mRNA ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Hayvanların testis *irs-1* mRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre fruktoz tüketen grupta belirgin bir azalmanın olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.13).

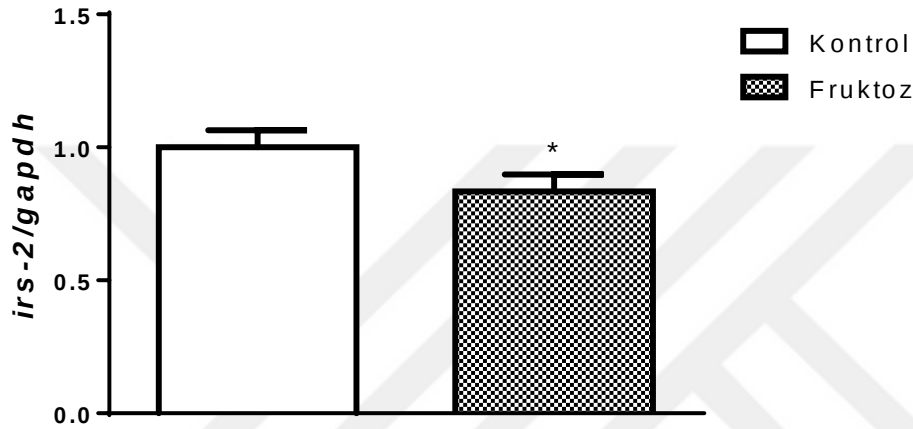


Şekil 4.13. Testis örneklerinde *irs-1* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *irs-1* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 7 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.3. Sıçan testis dokusunda *irs-2* mRNA ekspresyon düzeyi

Sıçan testis dokusunda *irs-2* mRNA ekspresyon miktarları Real Time-qPCR yöntemiyle saptanmıştır. Hayvanların testis örneklerinde *irs-2* mRNA ekspresyonları incelendiğinde, fruktoz tüketiminin *irs-2* mRNA düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (Şekil 4.14).

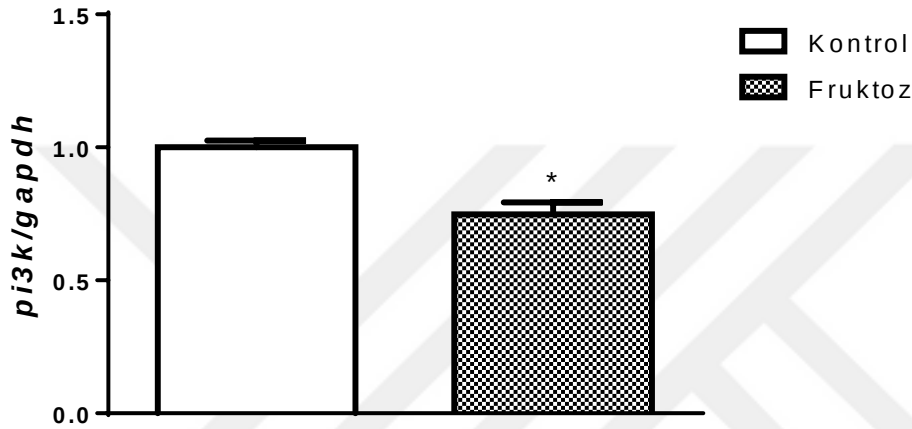


Şekil 4.14. Testis örneklerinde *irs-2* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *irs-2* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.4. Sıçan testis dokusunda *pi3k* mRNA ekspresyon düzeyi

Sıçan testisinde *pi3k* mRNA ekspresyon miktarları Real Time-qPCR yöntemiyle saptanmıştır. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, testis *pi3k* mRNA ekspresyon miktarlarının, kontrol grubuna göre, belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.15).

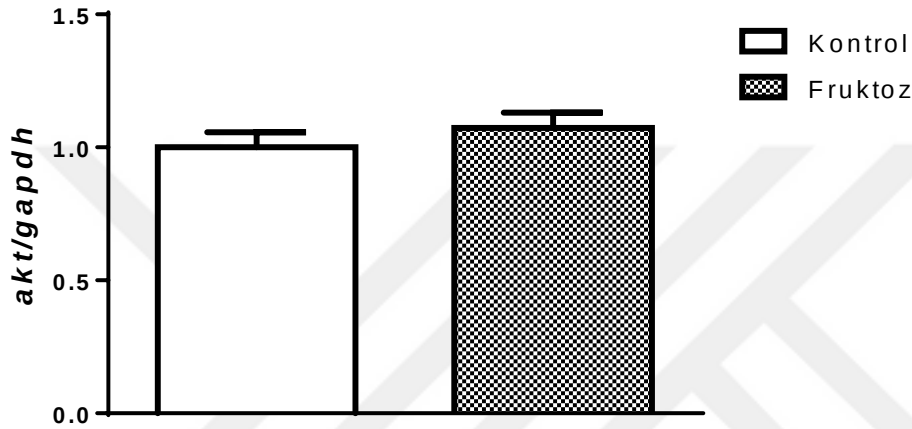


Şekil 4.15. Testis örneklerinde *pi3k* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *pi3k* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.5. Sıçan testis dokusunda *akt* mRNA ekspresyon düzeyi

Sıçan testis dokusunda *akt* mRNA ekspresyon düzeyleri Real Time-qPCR yöntemiyle saptanmıştır. İçme suyu içinde fruktoz tüketen sıçanlarda, testis *akt* mRNA ekspresyon düzeyinin, kontrol grubuna kıyasla değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.16).

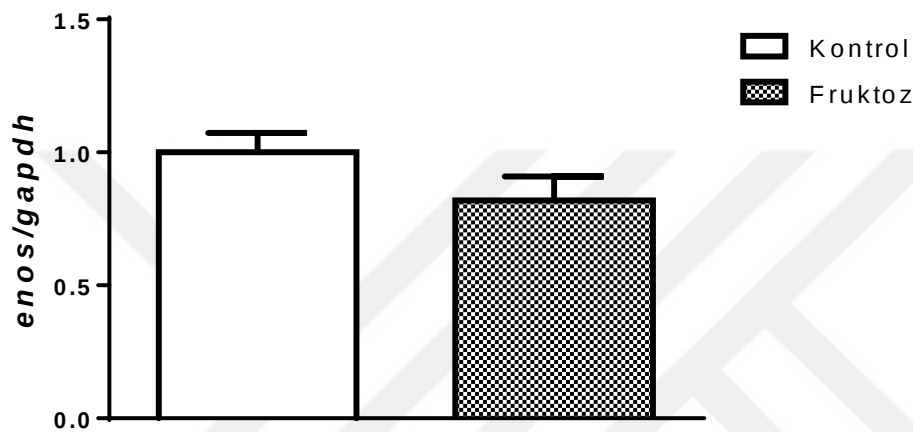


Şekil 4.16. Testis örneklerinde *akt* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *akt* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 7 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.3.6. Sıçan testis dokusunda *enos* mRNA ekspresyon düzeyi

Real Time-qPCR yöntemiyle sıçan testisinde *enos* mRNA ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Şekil 4.17’de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı sonucunda testis *enos* mRNA ekspresyon seviyelerinde kontrole kıyasla azalma eğilimde olduğu; ancak anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

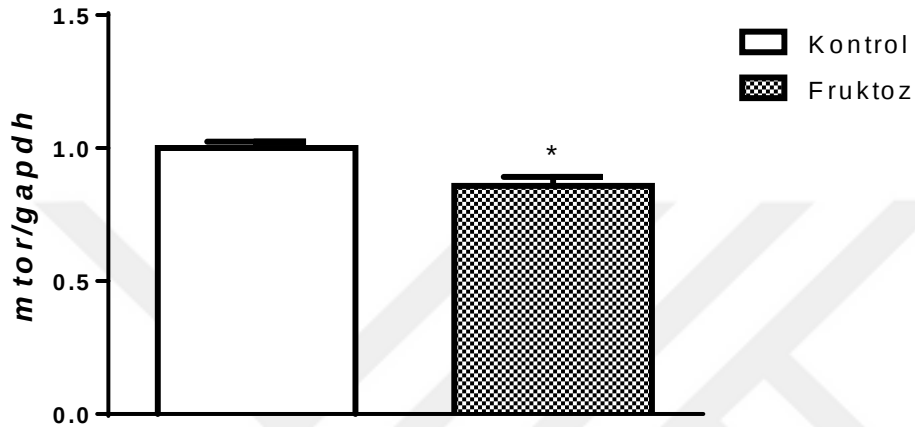


Şekil 4.17. Testis örneklerinde *enos* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *enos* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 7 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.3.7. Sıçan testis dokusunda *mtor* mRNA ekspresyon düzeyi

Real Time-qPCR yöntemiyle sıçan testisinde *mtor* mRNA ekspresyon miktarları belirlenmiştir. Fruktoz tüketiminin, testis *mtor* mRNA ekspresyon düzeyini kontrole kıyasla belirgin bir şekilde baskıladığı Şekil 4.18'de gösterilmiştir.

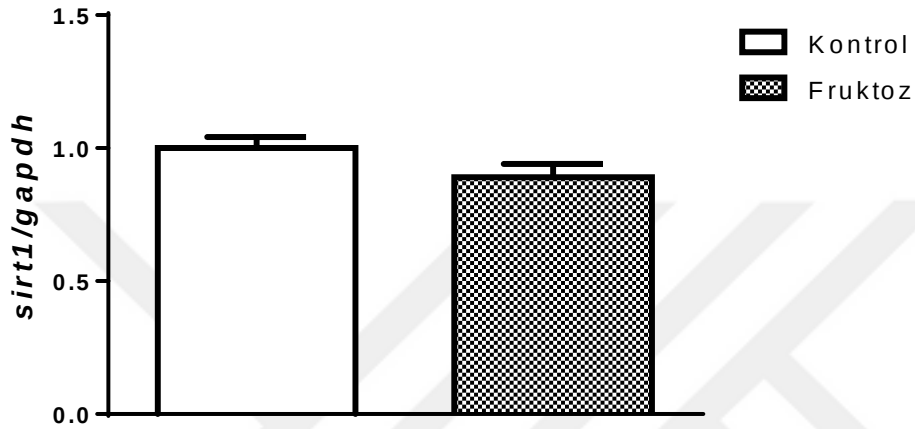


Şekil 4.18. Testis örneklerinde *mtor* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *mtor* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.8. Sıçan testis dokusunda *sirt1* mRNA ekspresyon düzeyi

Sıçan testisinde *sirt1* mRNA ekspresyon düzeyleri Real Time-qPCR yöntemiyle saptanmıştır. Fruktoz tüketiminin testis *sirt1* mRNA ekspresyon düzeyini değiştirmedeği saptanmıştır (Şekil 4.19).

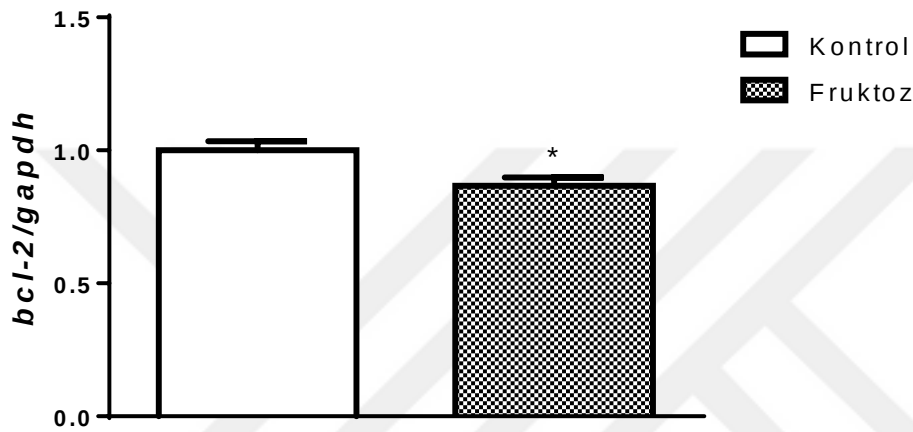


Şekil 4.19. Testis örneklerinde *sirt1* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *sirt1* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 7 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.3.9. Sıçan testis dokusunda *bcl-2* mRNA ekspresyon düzeyi

Sıçan testisinde *bcl-2* mRNA ekspresyon miktarları Real Time-qPCR yöntemiyle saptanmıştır. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, testis *bcl-2* mRNA ekspresyon miktarlarının, kontrol grubuna göre, belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.20).

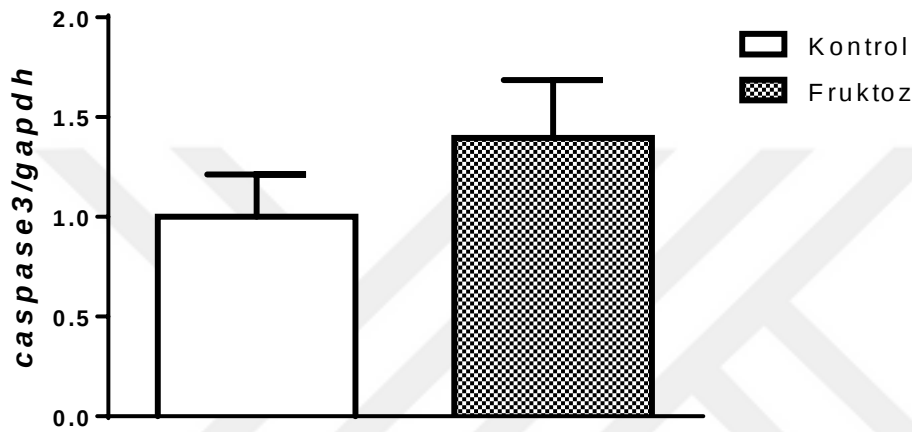


Şekil 4.20. Testis örneklerinde *bcl-2* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *bcl-2* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 7 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.10. Sıçan testis dokusunda *caspase3* mRNA ekspresyon düzeyi

Real Time-qPCR yöntemiyle sıçan testisinde *caspase3* mRNA ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Şekil 4.21’de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı sonucunda testis *caspase3* mRNA ekspresyon seviyelerinde kontrole kıyasla artma eğilimde olduğu; ancak anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.



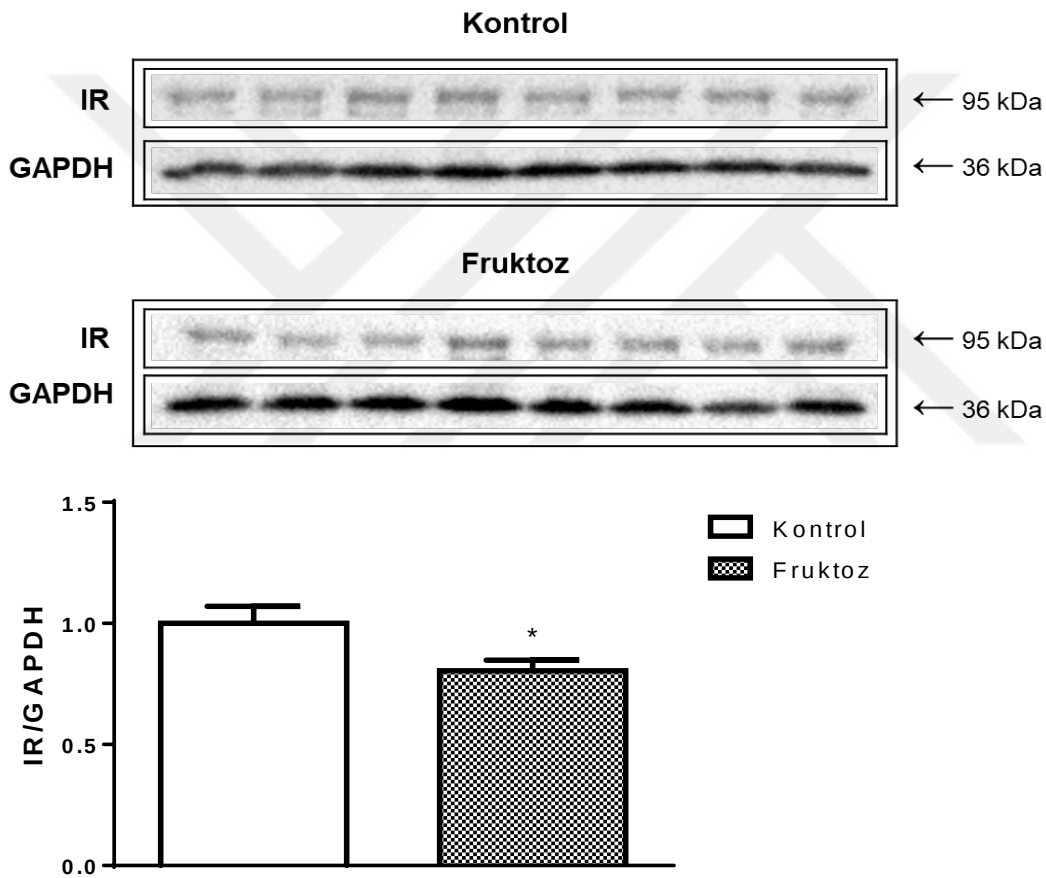
Şekil 4.21. Testis örneklerinde *caspase3* mRNA miktarı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. *caspase3* ekspresyon düzeyi *gapdh*'e oranlanarak normalize edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.4. Testis Protein Düzeylerinin Western Blot Yöntemi ile Ölçümü

4.4.1. Sıçan testis dokusunda IR protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde IR protein miktarları ölçülmüştür. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, testis IR protein ekspresyon miktarlarının, kontrol grubuna göre, belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.22).

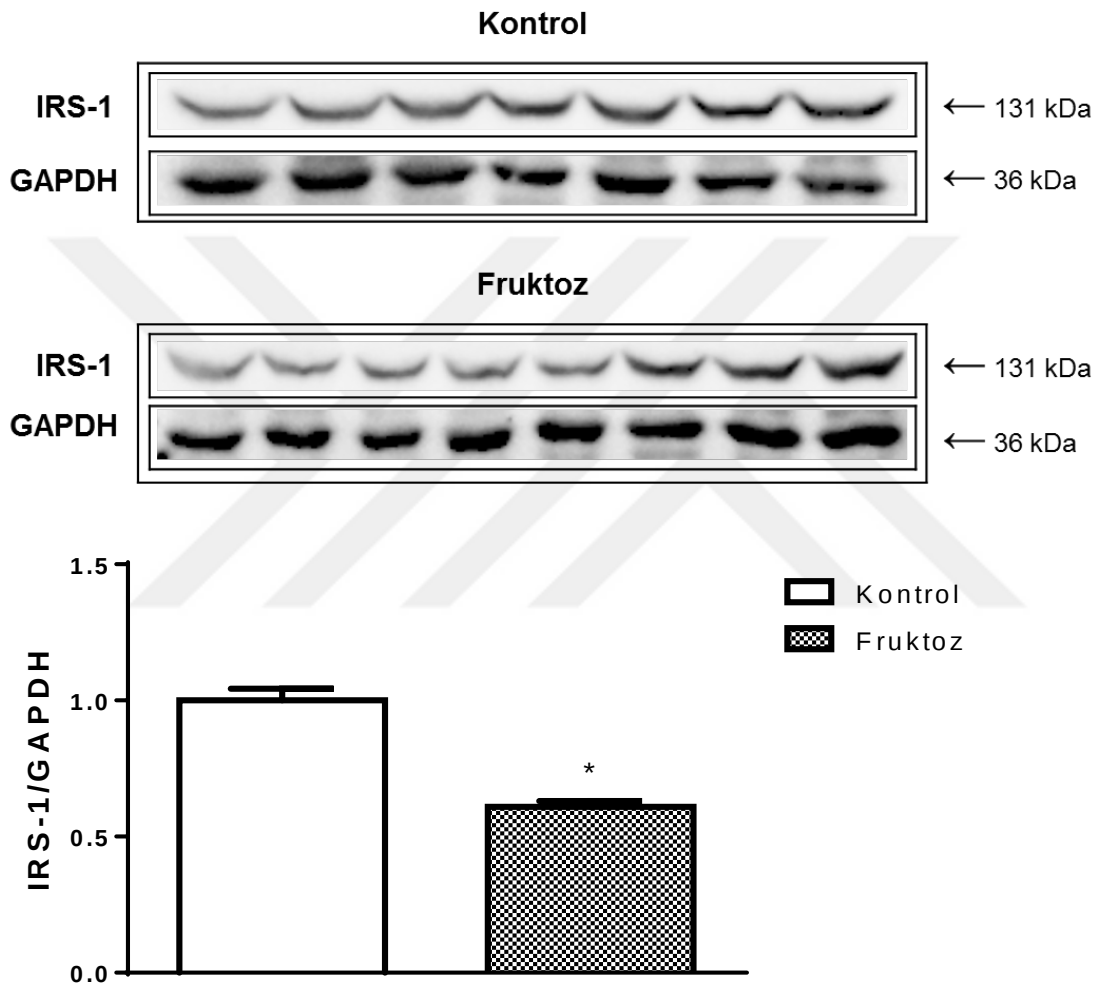


Şekil 4.22. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IR gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.2. Sıçan testis dokusunda IRS-1 protein ekspresyon düzeyi

Sıçan testis dokusunda IRS-1 protein miktarları Western Blot yöntemiyle saptanmıştır. Fruktoz tüketimi, sıçanlarda IRS-1 protein ekspresyon düzeyini belirgin şekilde azalttığı saptanmıştır (Şekil 4.23).

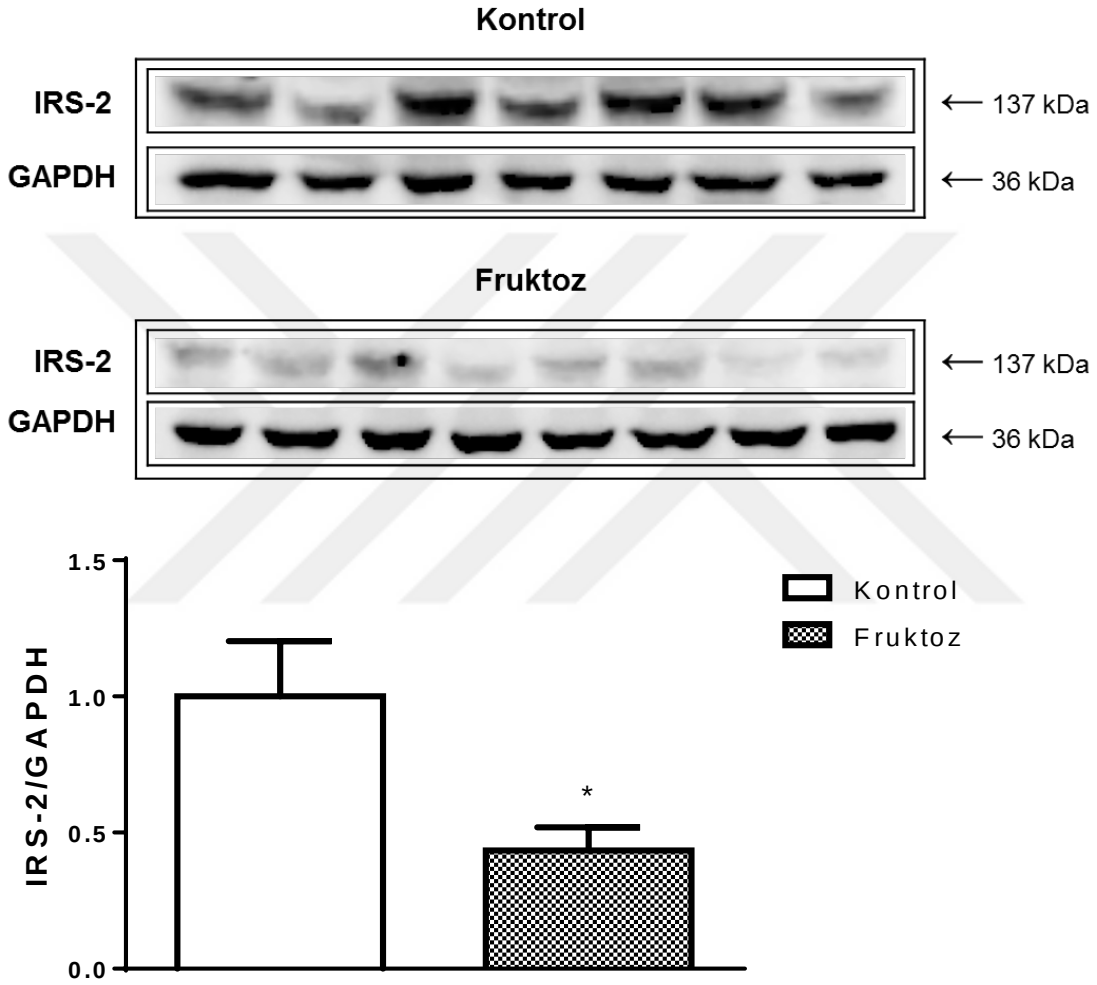


Şekil 4.23. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IRS-1 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.3. Sıçan testis dokusunda IRS-2 protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde IRS-2 protein düzeyleri ölçülmüştür. Şekil 4.24'de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı testis IRS-2 protein ekspresyon düzeyini anlamlı bir şekilde azaltmıştır.

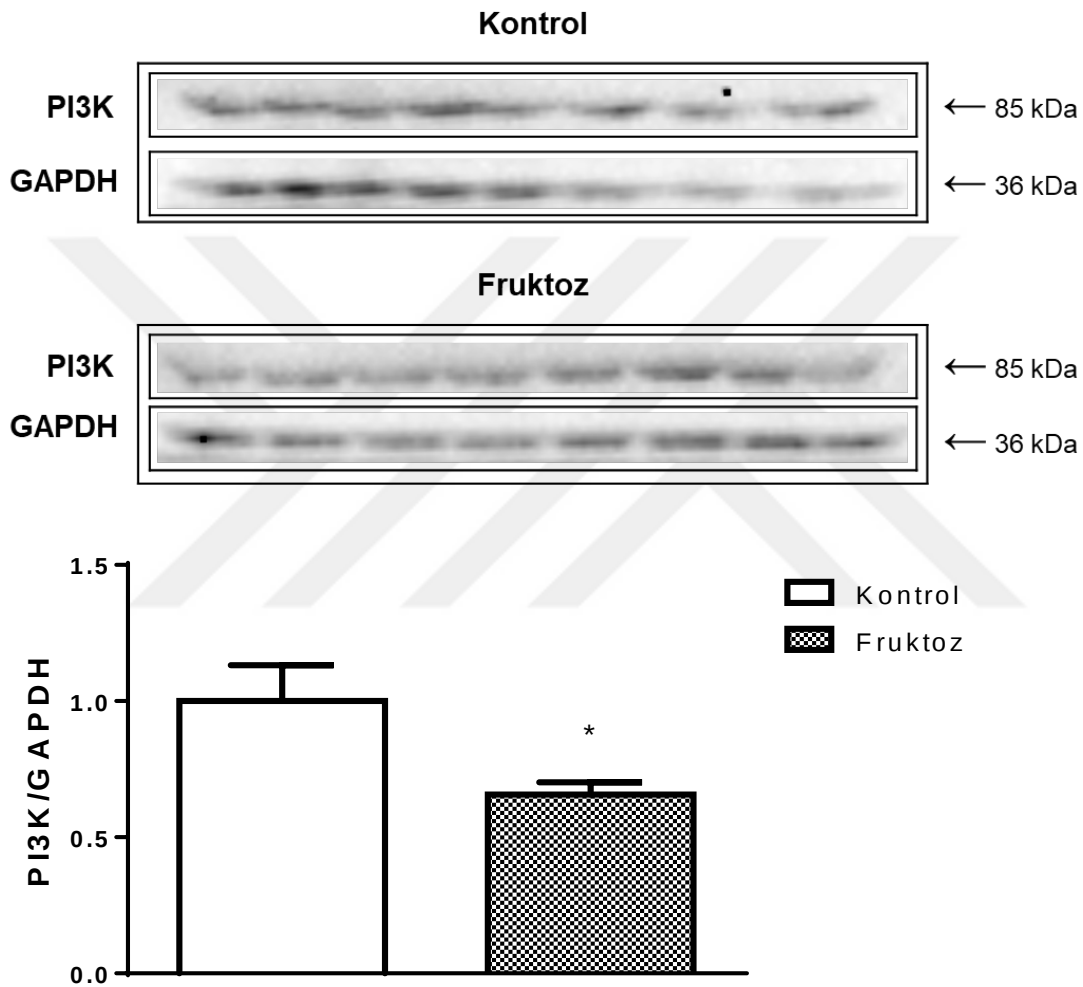


Şekil 4.24. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde IRS-2 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.4. Sıçan testis dokusunda PI3K protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde PI3K protein miktarları ölçülmüştür. Fruktoz alınması, testis PI3K düzeylerini kontrole kıyasla belirgin bir şekilde baskıladığı Şekil 4.25'de gösterilmiştir.

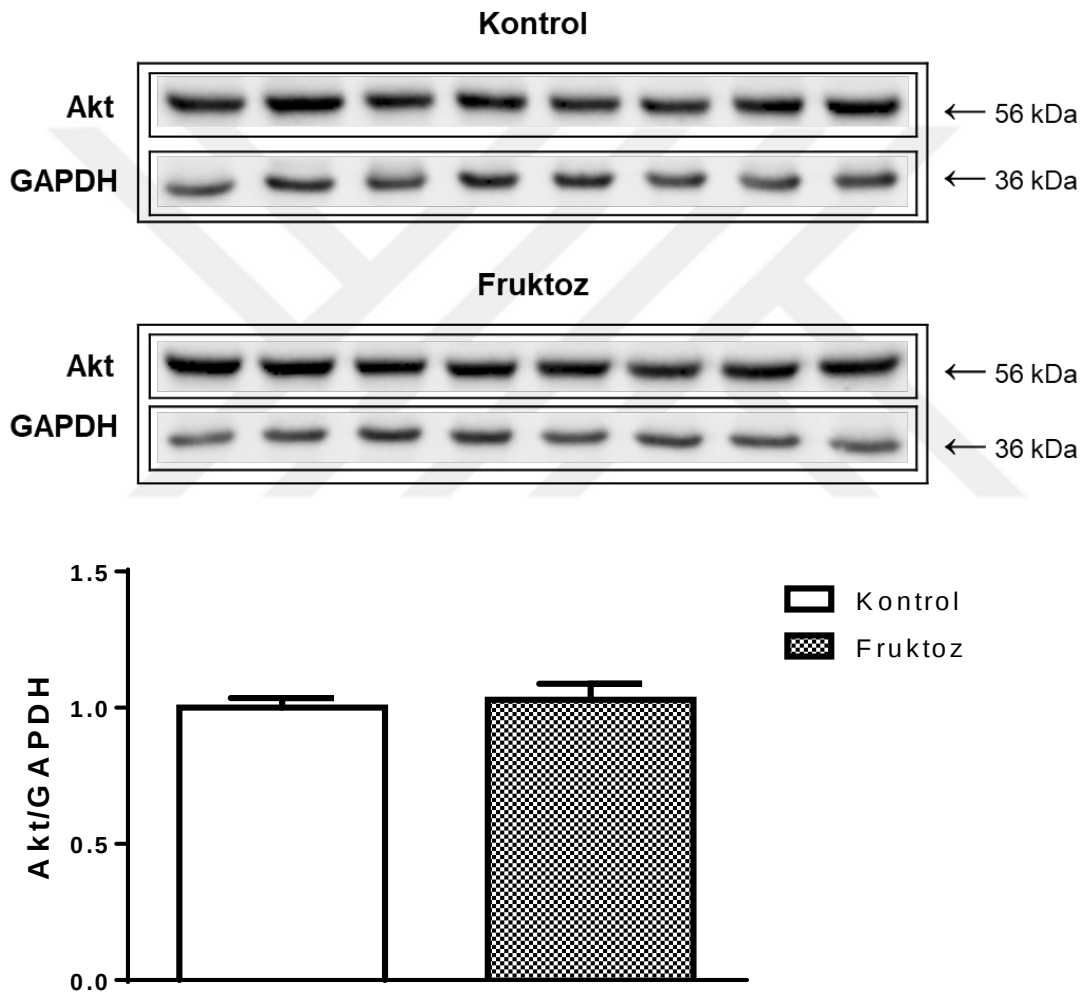


Şekil 4.25. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde PI3K gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

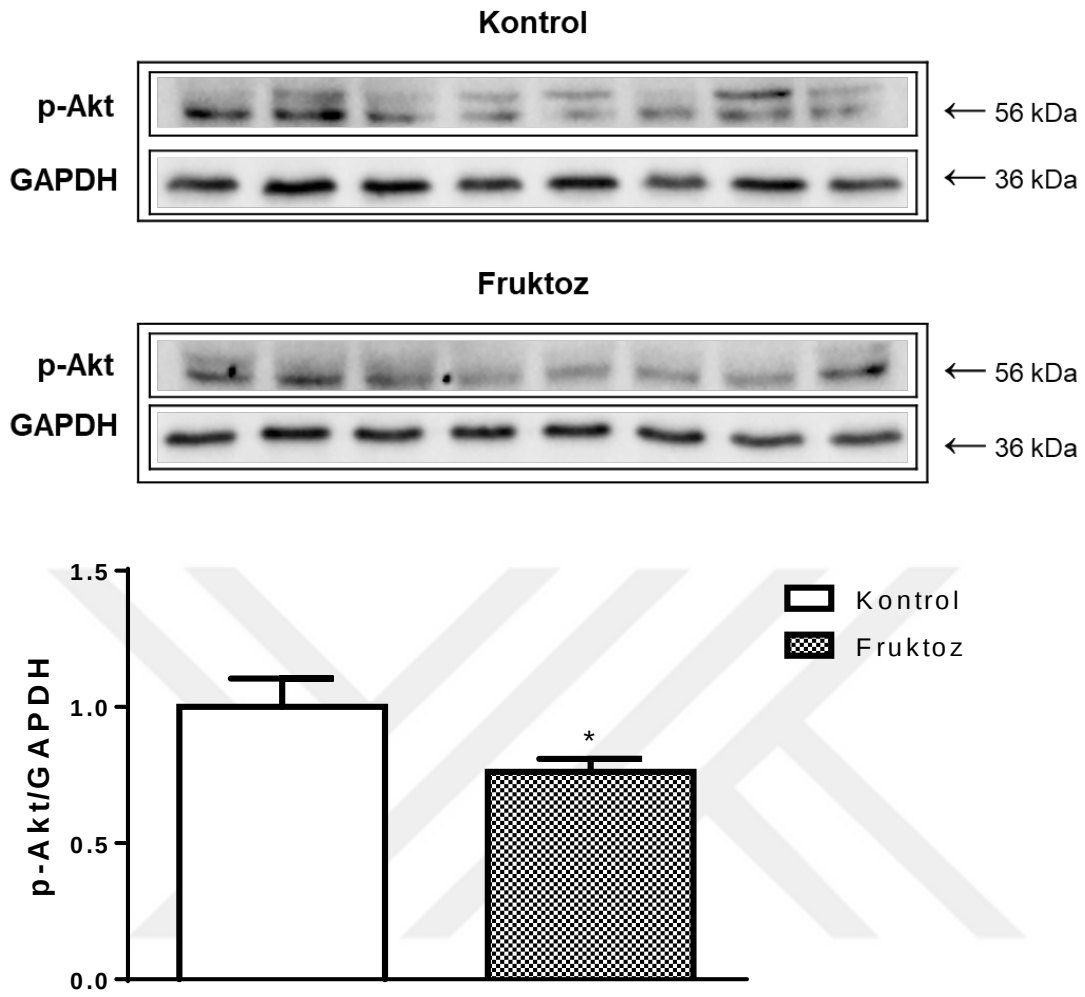
4.4.5. Sıçan testis dokusunda Akt ve p-Akt protein ekspresyon düzeyi

Sıçan testisinde Akt ve p-Akt protein düzeyleri Western Blot yöntemiyle saptanmıştır. Fruktoz tüketiminin testis Akt protein düzeyini değiştirmedığı saptanmıştır (Şekil 4.26). Ancak, kontrole kıyasla fruktoz tüketen sıçan testis p-Akt protein düzeyi ve p-Akt/Akt oranı anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.27-28).



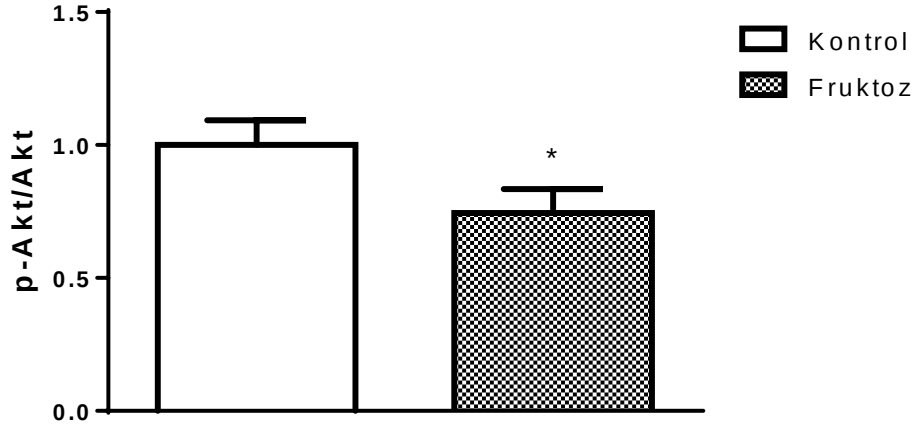
Şekil 4.26. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde Akt gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.



Şekil 4.27. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-Akt gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

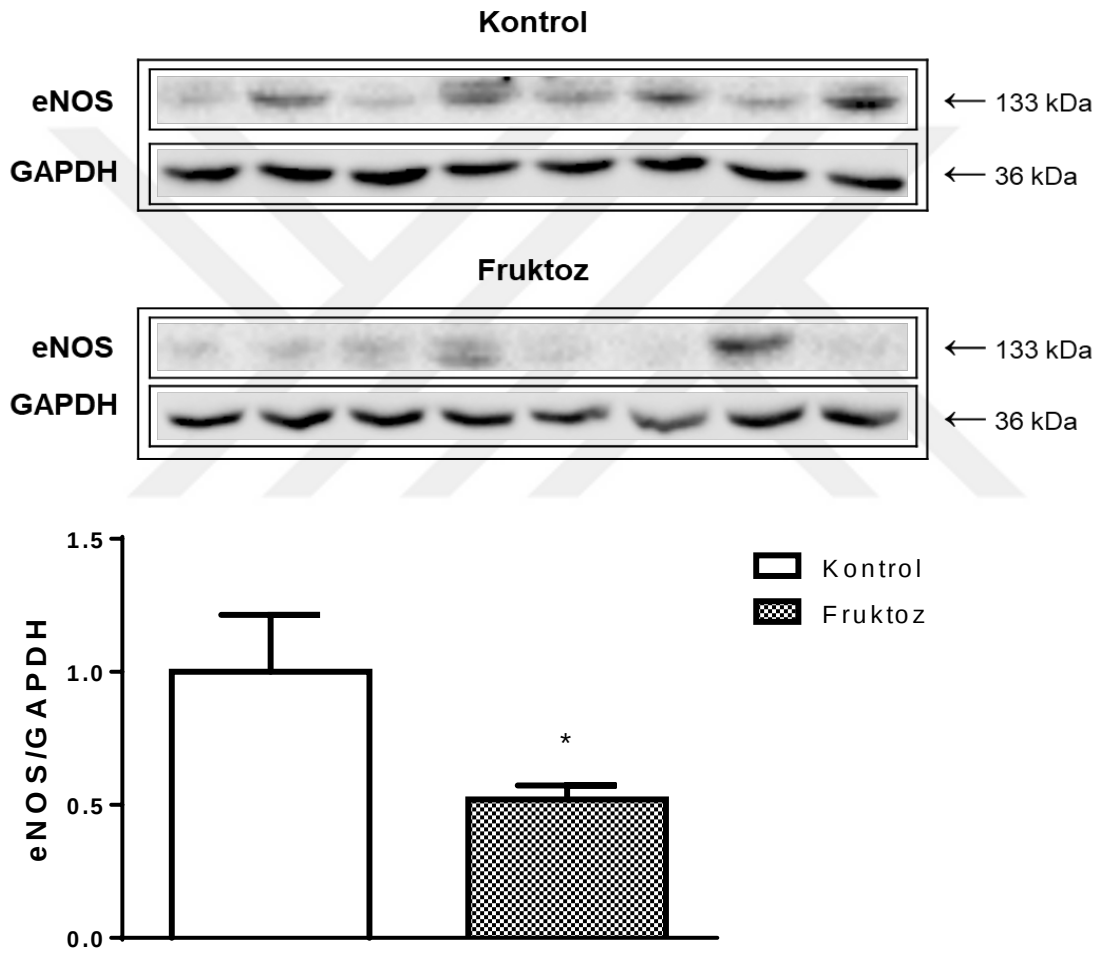


Şekil 4.28. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-Akt/Akt protein düzeyi oranı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

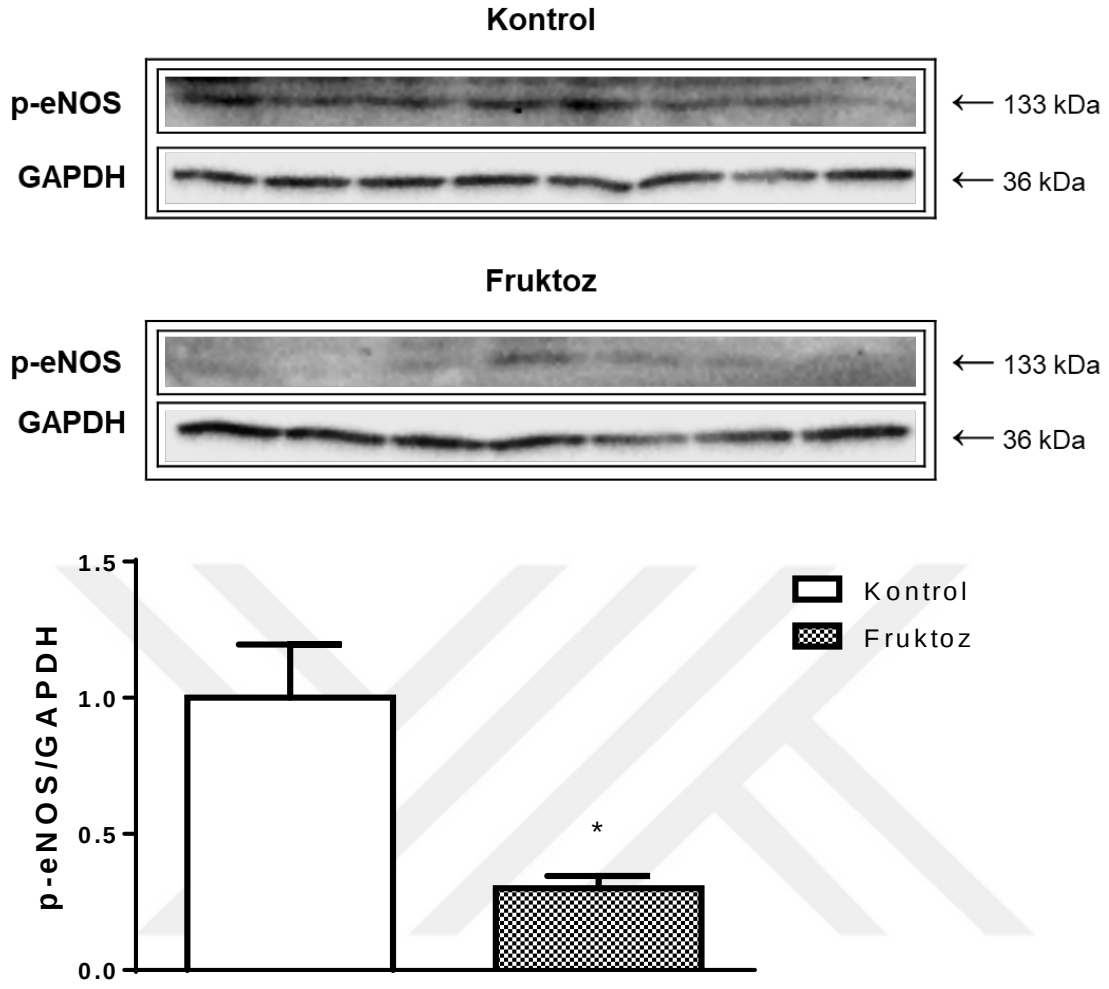
4.4.6. Sıçan testis dokusunda eNOS ve p-eNOS protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde eNOS ve p-eNOS protein miktarları ölçülmüştür. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, testis eNOS ve p-eNOS protein ekspresyon miktarlarının, kontrol grubuna göre, belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.29-30). Ayrıca, p-eNOS/eNOS oranının kontrole kıyasla, fruktoz tüketen grupta azaldığı Şekil 4.31'de gösterilmiştir.



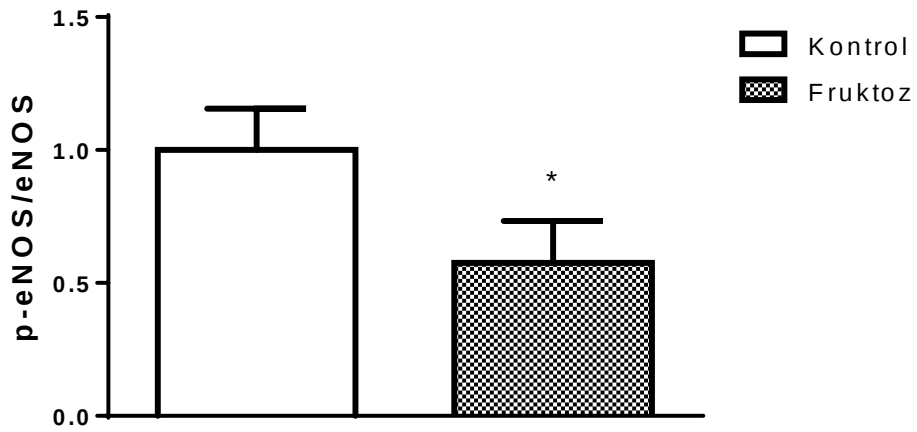
Şekil 4.29. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde eNOS gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.30. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-eNOS gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

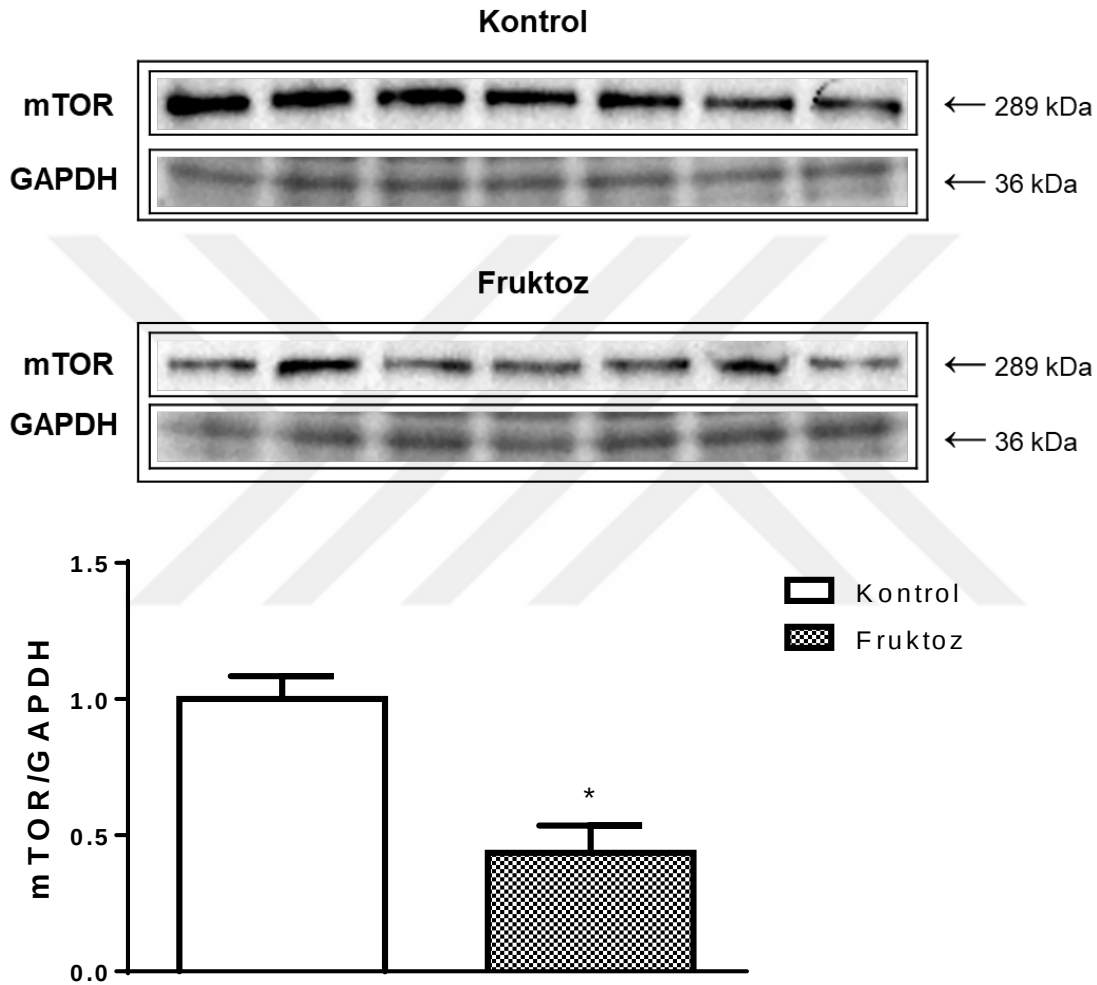


Şekil 4.31. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde p-eNOS/eNOS protein düzey oranı

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.7. Sıçan testis dokusunda mTOR protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testis dokusunda mTOR protein düzeyleri belirlenmiştir. Fruktoz tüketimi, sıçanlarda mTOR protein ekspresyon düzeyini belirgin şekilde azalttığı saptanmıştır (Şekil 4.32).

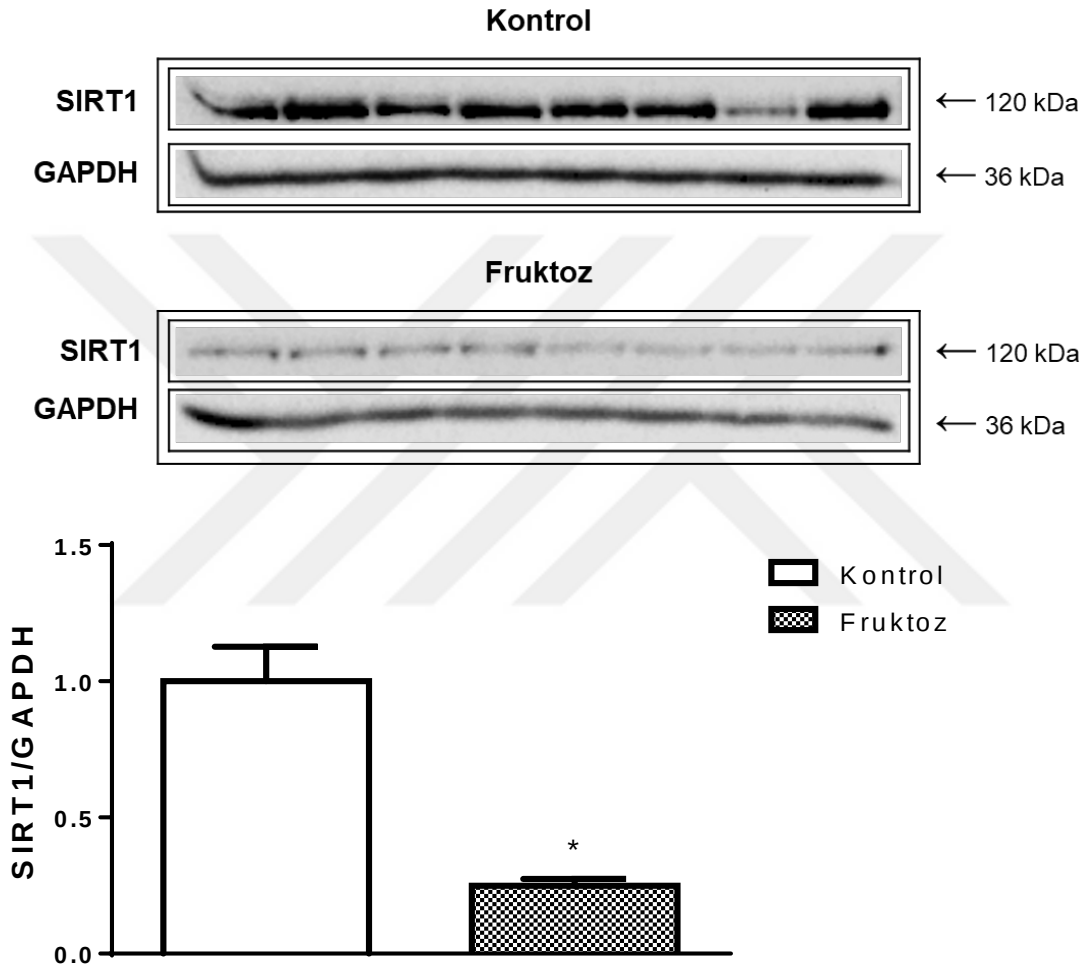


Şekil 4.32. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde mTOR gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.8. Sıçan testis dokusunda SIRT1 protein ekspresyon düzeyi

Sıçan testis dokusunda SIRT1 protein miktarları Western Blot yöntemiyle saptanmıştır. Fruktoz tüketimi, sıçanlarda testis SIRT1 protein ekspresyon düzeyini belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir (Şekil 4.33).

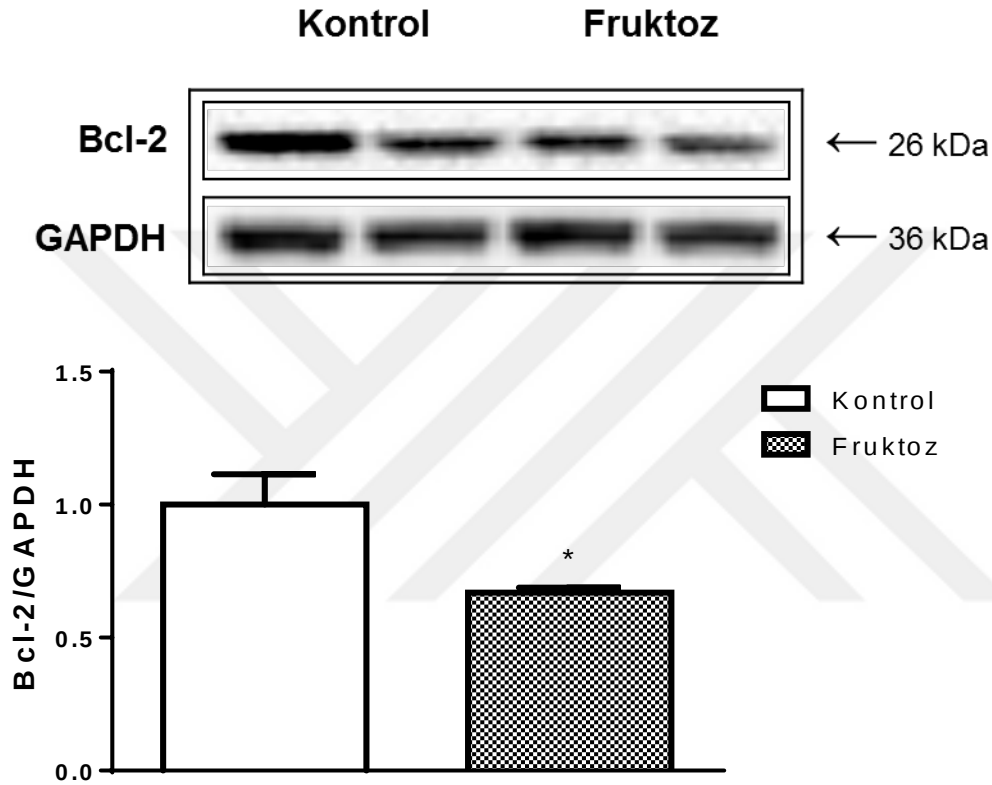


Şekil 4.33. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde SIRT1 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.9. Sıçan testis dokusunda Bcl-2 protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde anti-apoptotik Bcl-2 protein düzeyleri ölçülmüştür. Şekil 4.34'de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı testis Bcl-2 protein düzeyini anlamlı bir şekilde azaltmıştır.

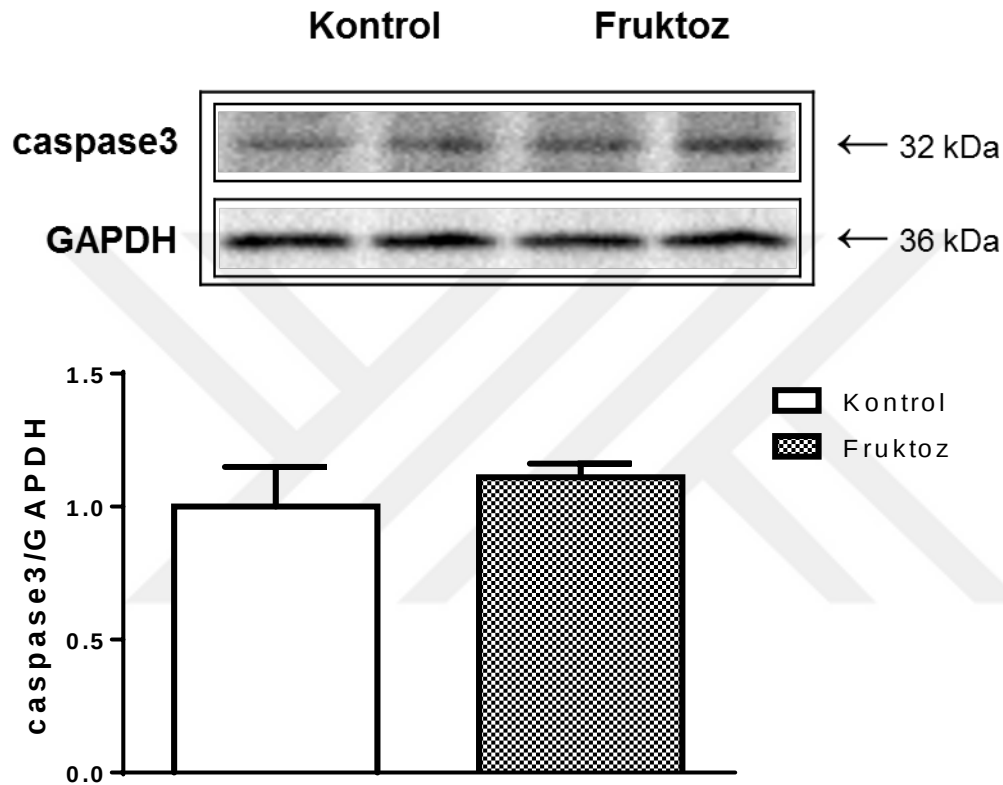


Şekil 4.34. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde Bcl-2 temsili bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.10. Sıçan testis dokusunda caspase3 protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testis dokusunda caspase3 protein düzeyleri belirlenmiştir. Fruktoz tüketiminin testis caspase3 protein düzeyini değıştirmediği saptanmıştır (şekil 4.35).

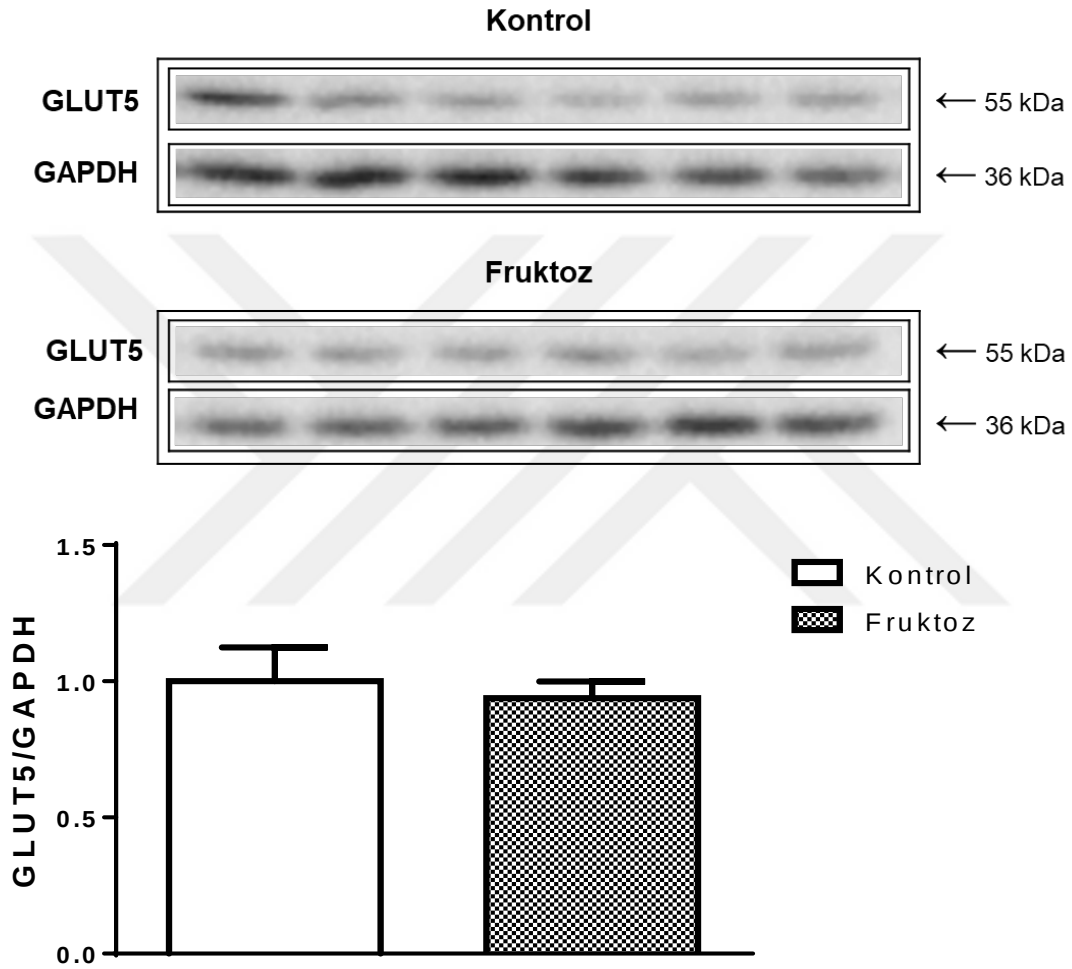


şekil 4.35. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde caspase3 temsili bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.4.11. Sıçan testis dokusunda GLUT5 protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testis dokusunda GLUT5 protein düzeyleri belirlenmiştir. Sıçan testis GLUT5 düzeylerinin fruktoz tüketimi sonucunda değişmediği saptanmıştır (Şekil 4.36).

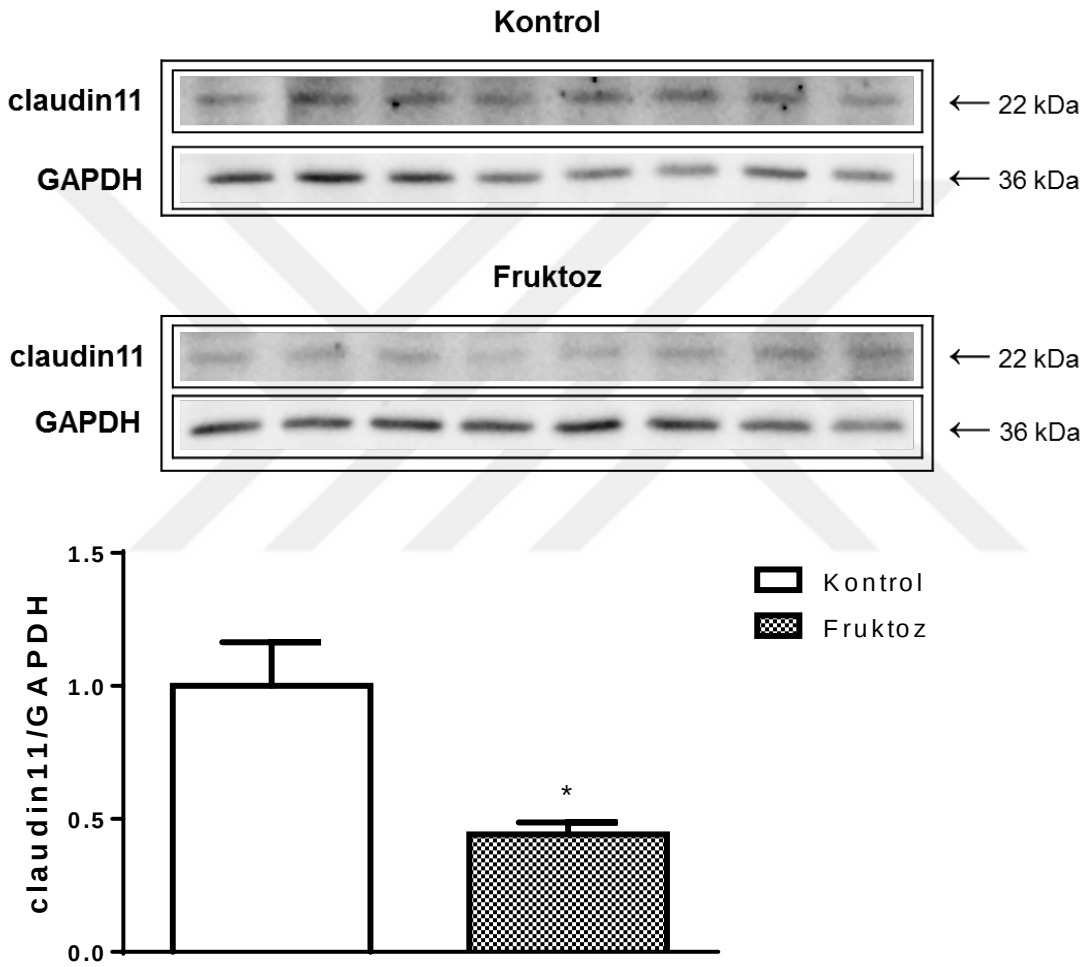


Şekil 4.36. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde GLUT5 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir.

4.4.12. Sıçan testis dokusunda claudin11 protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde claudin11 protein miktarları ölçülmüştür. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, testis claudin11 protein ekspresyon düzeyinin, kontrol grubuna göre, belirgin şekilde azaldığı Şekil 4. 37'de gösterilmiştir.

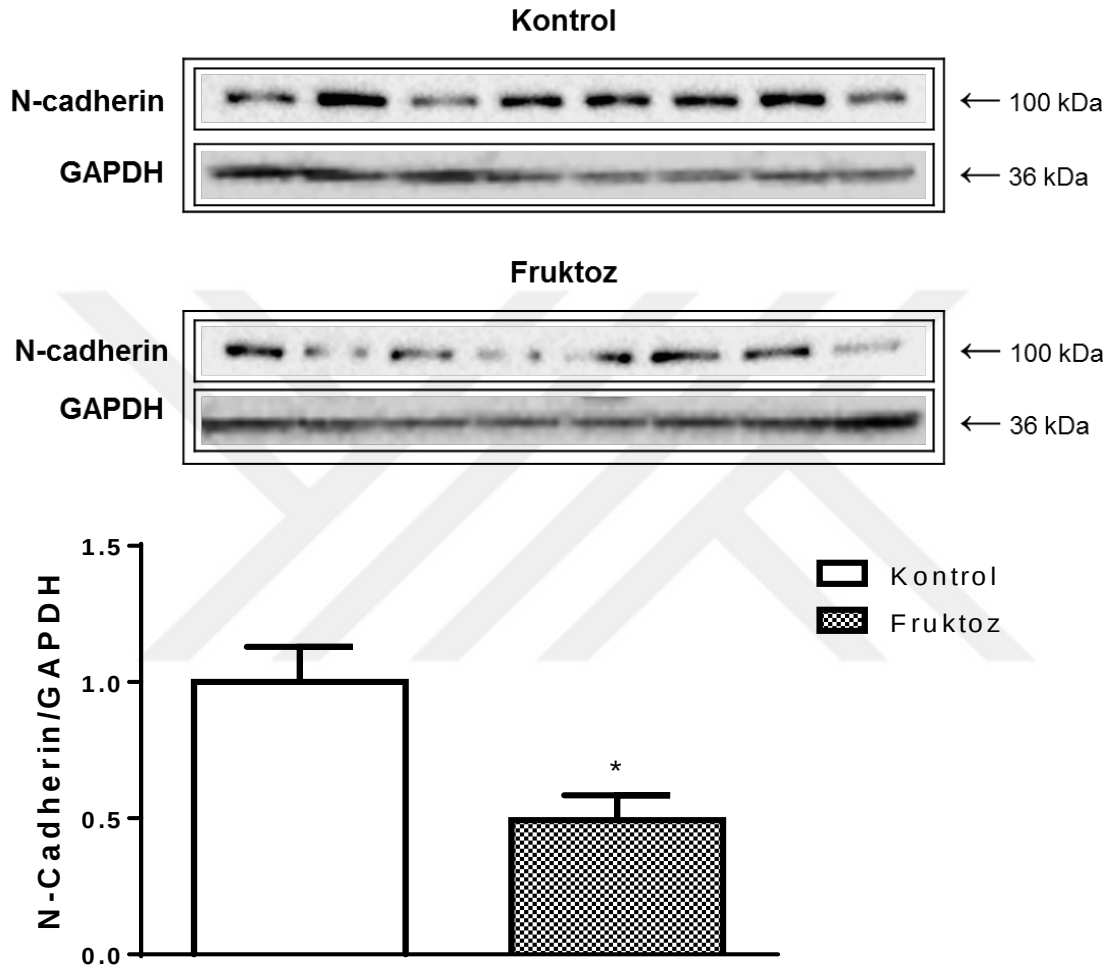


Şekil 4.37. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde claudin11 gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.13. Sıçan testis dokusunda N-cadherin protein ekspresyon düzeyi

Western Blot yöntemiyle sıçan testisinde N-cadherin protein düzeyleri ölçülmüştür. Şekil 4.38'de görüldüğü üzere, sıçanlarda fruktoz alımı testis N-cadherin protein ekspresyon düzeyini anlamlı bir şekilde azaltmıştır.



Şekil 4.38. Kontrol ve fruktoz grubu sıçanların testis doku örneklerinde N-cadherin gerçek bant görüntüsü ve protein düzeyi

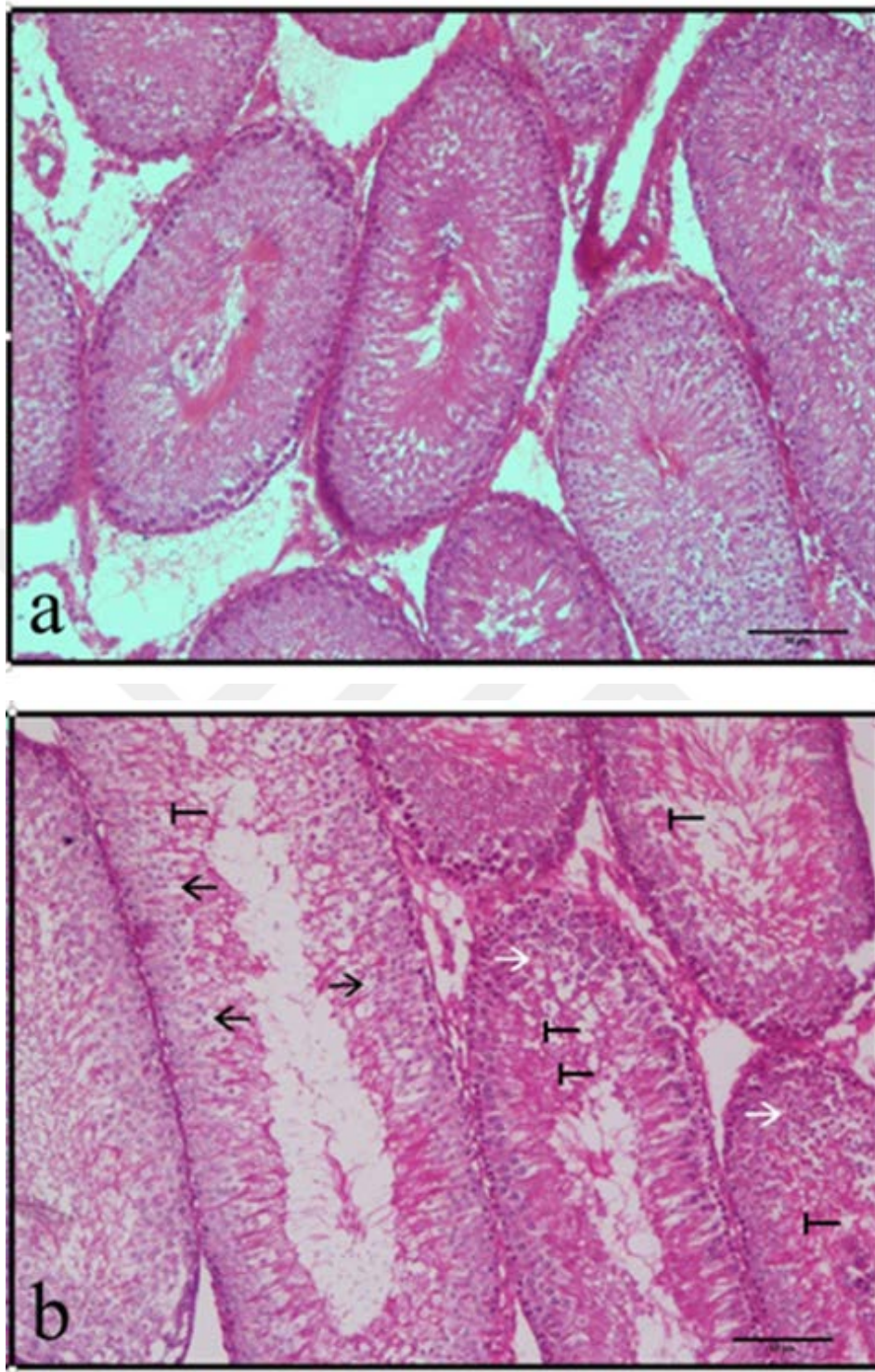
Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar GAPDH'e oranlanarak normalize edildi. Her bar en az 6 sıçandan alınan testis örneklerini göstermektedir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5. Histopatolojik ve İmmunohistolojik Değerlendirme

Sıçanların testis doku örneklerinde yapılan Hematoksilen-Eozin boyama görüntüleri incelendiğinde, kontrol grubunda herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Fruktoz tüketen sıçan seminifer tübüllerinde düzensizlik ve germ hücre dejenerasyonu tespit edilmiştir. İçme suyu içinde yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda kontrole kıyasla vakuoler ve intratübüler dejenerasyon olduğu görülmüştür. Fruktoz ile beslenen hayvan seminifer tübüllerinde nekrotik materyal ve debris akümüasyonu görülmüştür. Ayrıca, birçok tübül lümeninde hiperkromatik çekirdekli ve belirgin sitoplazmalı deskuamatif rezidüel germ hücreleri saptanmıştır (Resim 4.1).

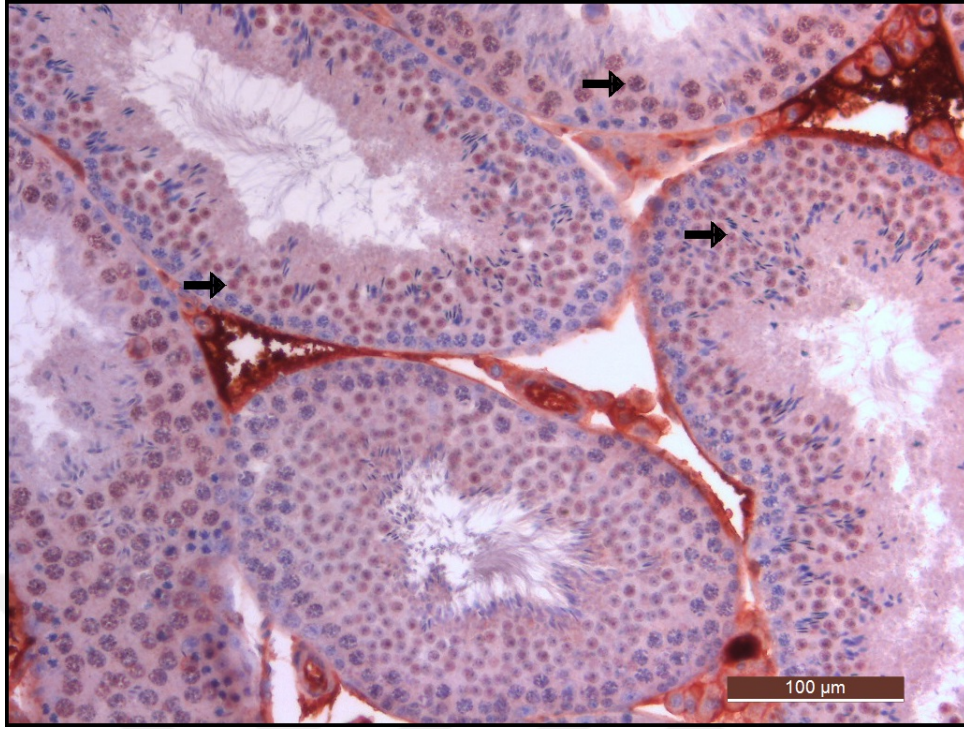
Yüksek fruktozlu diyetin testislerdeki apoptotik moleküller üzerindeki etkisi caspase8 antikoru ile immunohistokimyasal çalışmalarla belirlenmiştir. Kontrol grubu spermatogonia hücrelerinde caspase8 pozitif boyama gösterilmiştir. Fruktoz tüketiminin spermatogonia caspase8 düzeyini azalttığı, spermatid ve Leydig çekirdek ve/veya sitoplazmalarında caspase8 pozitif hücre sayısını artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2; Resim 4.2-3).

Yüksek fruktoz tüketiminin testiküler p53 proteini üzerine etkisi immunohistokimyasal çalışmalarla belirlenmiştir. Kontrol hayvanlarda; p53 antikoruyla spermatogonia sitoplazmalarında granüler pozitifliğe rastlanmıştır. Fruktoz tüketiminin spermatogonia p53 düzeyini azalttığı gösterilmiştir (Çizelge 4.3; Resim 4.4-5).



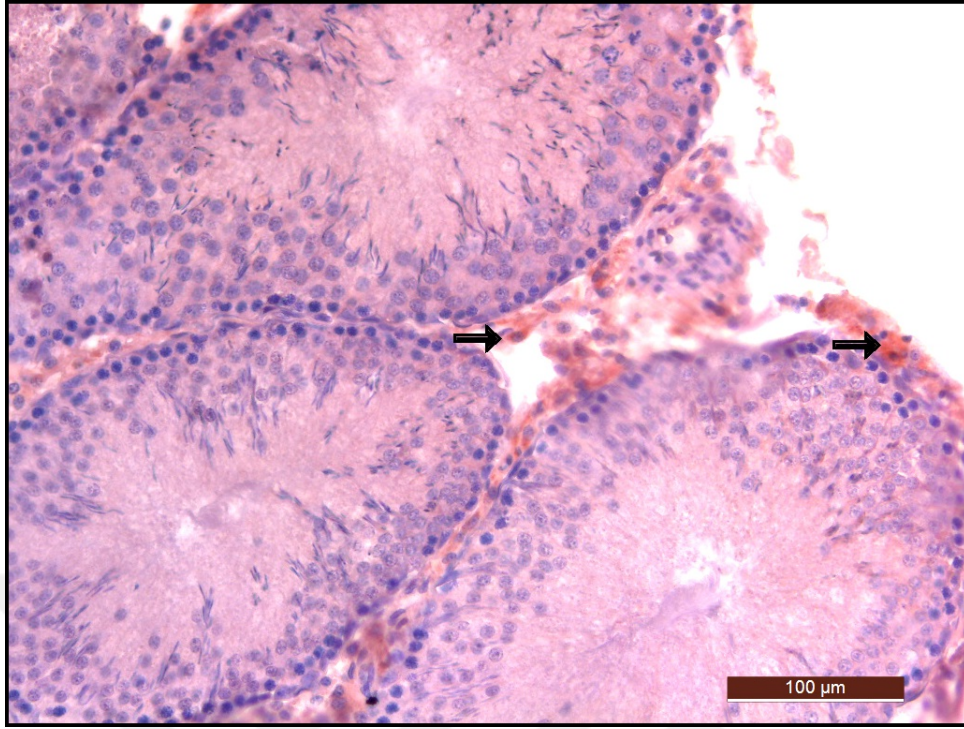
Resim 4.1. Sıçan testis dokularına ait Hematoksilen-Eozin boyama görüntüsü

Kontrol ve Fruktoz (a;b) grupları, spermatogenik vakuoler dejenerasyon (siyah oklar), seminifer tübüldeki nekrotik materyal ve hücresel debris (beyaz oklar), intratübüler dejenerasyon (bloke oklar), x100 büyütme oranı



Resim 4.2. Kontrol grubu testis dokusunda caspase8 antikoruna ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü

Testis spermatogonia çekirdeklerinde caspase8 pozitiflik siyah oklar ile gösterilmiştir, x100 büyütme oranı



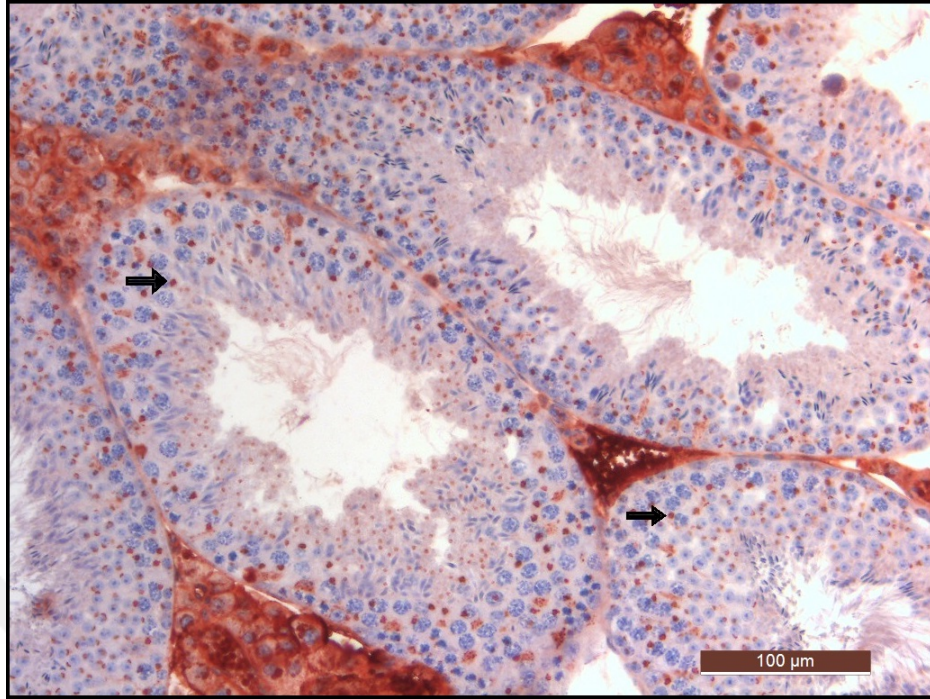
Resim 4.3. Fruktoz grubu testis dokusunda caspase8 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü

Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında caspase8 pozitiflik siyah oklar ile gösterilmiştir, x100 büyütme oranı

Çizelge 4.2. Testiküler caspase8 immunpozitif hücre dağılımı

	Kontrol	Fruktoz
Spermatogonia	+++	-
Spermatozoid	-	-
Spermatid	-	+
Sertoli hücre	-	-
Leydig hücre	-	+
Spermatozoon	-	-

-: Negatif, +: %10'undan az immunpozitif, ++: %10 ile %50 arasında immunpozitif, +++: %50'sinden fazlası immunpozitif



Resim 4.4. Kontrol grubu testis dokusunda p53 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü

Testis tubüllerinde spermatogonia sitoplazmalarında p53 granüler pozitiflik siyah oklar ile gösterilmiştir, x100 büyütme oranı



Resim 4.5. Fruktoz grubu testis dokusunda p53 antikoru ile immunohistokimyasal boyama görüntüsü

Çizelge 4.3. Testiküler p53 immunpozitif hücre dağılımı

	Kontrol	Fruktoz
Spermatogonia	+++	-
Spermatozoid	-	-
Spermatid	-	-
Sertoli hücre	-	-
Leydig hücre	-	-
Spermatozoon	-	-

-: Negatif, +: %10'undan az immunpozitif, ++: %10 ile %50 arasında immunpozitif, +++: %50'sinden fazlası immunpozitif



5. TARTIŞMA

Dünya genelinde görülme sıklığı artan obezite, tip 2 diyabet ve metabolik sendromun nedenleri arasında, diyet içerisinde alınan yüksek şeker ve yağ tüketimi artışının olabileceği ileri sürülmüştür [4, 330]. Araştırmalar; yüksek fruktozlu diyetin insülin direnci [56, 57, 206, 209, 241], hipertrigliseridemi [29, 196], abdominal yağlanma [215, 331], endotel disfonksiyon [213-215, 217, 332], hipertansiyon [210, 333] ve hepatik steatosis [208, 212, 242] ile karakterize metabolik sendroma neden olduğunu göstermiştir.

Metabolik sendromun erkeklerde hipogonadizmle birlikte seyrettiği görülmüştür [11]. İnfertil erkeklerde yapılan araştırmalarda, testosteron düzeyi baskılanmasının insülin direnciyle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir [14, 16]. Fruktoz tüketiminin çeşitli dokularda inflamatuvar ve apoptotik faktörleri aktive ederek, insülin direnci ve doku hasarına neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [56, 215, 219, 235]. Ancak, fruktoz tüketiminin testiküler fonksiyonlar üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar kısıtlıdır [21, 22, 25, 33, 38, 39]. Yaptığımız literatür araştırmasında, yüksek fruktoz diyetinin testiküler inflamatuvar, apoptotik, KTB ve insülin sinyal yolağı molekülleri üzerine etkisini ve bu yolakların ilişkilerinin incelenmediği görülmüştür.

Bu amaçla bu tez çalışması kapsamında, 15 hafta süre ile içme suyu içinde %20 oranında fruktoz tüketen erkek Wistar sıçanların biyokimyasal, endokrin, testiküler inflamatuvar, apoptotik ve KTB parametrelerinin yanı sıra testis dokusundaki IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, eNOS, mTOR ve SIRT1 mRNA ve protein düzeylerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yüksek fruktoz tüketiminin testiküler inflamasyon ve apoptozisi tetikleyerek, testis insülin sinyal yolağı ve KTB proteinlerini baskılayıp baskılanmadığı araştırılmıştır. Fruktoz tüketimi kaynaklı oluşan testiküler hasar ve azalan testosteron düzeyinin infertiliteye neden olabileceği öngörülmektedir.

Fruktozun etkisini incelemek için seçtiğimiz %20 oranı, içinde %7-15 oranında karbonhidrat bulunan meşrubatlardaki [334] miktara nispeten yakın olsa da, gündelik olarak tüketilen meşrubatlardaki fruktoz miktarına göre yüksektir. Araştırmalarda, kemirgenlerin içme suyu içinde %5 [335], %10 [20], %15 [336], %20 [21, 56, 217, 337, 338] ve %30 [25] oranlarında fruktoz tüketimini takiben 2. haftadan itibaren metabolik sendrom oluştuğu gösterilmiştir.

On beş hafta boyunca standart yem, içme suyu ve yüksek fruktoz içeren su ile beslenen sıçanların tükettikleri yem miktarı, tüketilen sıvı miktarı, günlük kalori alımı ve ağırlık değişimi incelenmiştir. Fruktoz ile beslenen sıçanlarda günlük alınan kalori miktarının artmasına karşın, vücut ağırlığında herhangi bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir. Daha önce yayımlanmış araştırmalar ve çalışmalarımızda; içme suyu içinde %20 oranında fruktoz tüketen sıçanlarda visseral yağlanmanın arttığı ancak, vücut ağırlığının değişmediği gösterilmiş olup bu çalışmadan elde edilen bulguları desteklemektedir [21, 331, 333, 339-342]. Fruktoz tüketimi sonucu visseral yağlanma gözlemlenirken kilo artışı oluşmaması, hayvanlarda kas kütlelerinde azalmanın olabileceğini veya alınan fruktozun barsaklardan tam absorbe olmadığını düşündürmektedir. Çalışmamızda, fruktoz grubunda günlük tüketilen yem miktarının azaldığı gösterilmiştir. Bu sebeple, fruktoz tüketen hayvanların günlük protein alımının azaldığını göstermemiz; fruktoz alan hayvanlarda kas kütlelerinde azalmanın olabileceği görüşümüzü desteklemektedir.

Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz tüketiminin sıçan sol testis ağırlığı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını, ancak sağ testis ağırlığında anlamlı bir azalma oluşturduğu saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda diyabetik veya yüksek fruktoz tüketen sıçanların testis ağırlığında anlamlı bir azalmanın olabileceği gösterilmiştir [21, 22, 37, 291, 321, 325]. Yem içinde yüksek fruktoz verilmesinin zamana bağlı etkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada, dördüncü hafta sonunda sıçan testis ağırlığının azaldığı ancak, 24 hafta sonunda testis ağırlığında anlamlı bir değişimin olmadığı bildirilmiştir [322]. Diğer bir çalışmada 8 hafta süreyle içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen sıçanlarda testis ağırlığının değişmediği saptanmıştır [39]. Sonuç olarak, yayımlanmış çalışmalar fruktoz tüketiminin sıçan testis ağırlığını azaltabileceğini ancak, fruktoz tüketim miktarı ve süresiyle ilişkili olarak testis

ağırlığında değişimin gözlenmeyebileceği görülmektedir. Bu çalışmadaki fruktoz tüketim süresini ve miktarını dikkate aldığımızda literatürdeki bulgular, bu tez çalışmasındaki sonuçları destekleyici niteliktedir.

Metabolik sendrom kriterlerinden bir tanesi bozulmuş glukoz metabolizmasıdır. Yapılan çalışmalar fruktoz tüketiminin insülin duyarlılığını etkilediğini göstermiştir [208, 343]. Sağlıklı birey ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda fruktoz tüketiminin plazma glukoz ve insülin düzeyini artırdığı bildirilmiştir [196, 205, 206]. Açlık plazma insülin düzeyinin artışı, vücudun insülin direncini telafi etme amacıyla verdiği bir yanıt olabileceği ileri sürülmektedir [147, 344]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, içme suyu içinde %20 fruktoz tüketen hayvanlarda plazma glukoz ve insülin düzeylerinde artış olduğu görülmüştür [21, 56, 342]. Bu tez çalışmasında fruktoz tüketiminin (içme suyu içinde %20 oranında) plazma glukoz ve insülin düzeylerini artırdığı saptanmıştır. Daha önce laboratuvarımızda yayımlanmış çalışmalara ait sonuçlar ile sunulan tez çalışmasının bulguları arasında paralellik olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında, fruktoz tüketen sıçanların plazma trigliserit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Sağlıklı bireyler ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, içme suyu [29, 194, 217] veya diyet içinde [236, 322] fruktoz tüketiminin kan trigliserit düzeyini anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir. Fruktoz tüketimi sonucu karaciğer ve adipoz dokuda oluşan yağlanmanın, hipertrigliseridemi kaynaklı olabileceği ileri sürülmektedir [30, 204, 215]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, %20 oranında fruktoz tüketen deney hayvanlarında plazma trigliserit düzeyinin arttığı görülmüştür [21, 56, 342]. Bu tez çalışmasının bulguları, literatürdeki ve laboratuvarımızda sunulan sonuçları desteklemektedir.

Testis Leydig hücreleri tarafından sentezlenen testosteron ve diğer androjenler; erkek üreme fonksiyonunun gelişmesinde ve korunmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir [345]. Araştırmacılar, metabolik sendrom ile testosteron düzeyi düşüklüğünün ilişkili olduğunu; metabolik sendromda görülen ve sonuçlarımızda gösterdiğimiz hiperinsülineminin testosteron düzeyini baskılayabileceğini ileri sürmüşlerdir [126, 304, 305]. Hormonal değişikliklere ait bulgular incelendiğinde; içme suyu içinde fruktoz tüketen sıçanlarda plazma serbest ve total testosteron

düzeylerinin değişmediği, aksine testiküler serbest ve total testosteron düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu tez çalışmasında plazma ve testis östrojen düzeylerinin fruktoz tüketimiyle değişmediği saptanmıştır. Fruktoz tüketiminin testiküler fonksiyonlar üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; yüksek fruktoz içeren yem ile 12 ve 24 hafta süresince beslenen sıçanların plazma testosteron düzeylerinde değişim olmadığı saptanmıştır [322]. İçme suyu içinde 10 hafta süreyle %20 oranında yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketen sıçanlarda, serum testosteron düzeyinin değişmediği bildirilmiştir [32]. Bu bulguyu desteklemeyen çalışmalarda mevcuttur. Kısa süreli fruktoz tüketiminin etkilerinin incelendiği çalışmalarda içme suyu içinde %20-30 oranında fruktoz tüketen hayvanların serum testosteron düzeylerinde artış gerçekleştiği bildirilmiştir [31, 38]. Diğer bir çalışmada, içme suyu içinde %10'luk fruktozu 8 hafta süresince tüketen pubertal sıçan serum testosteron düzeyinin azaldığı saptanmıştır [22]. Metabolik sendromda görülebilen adiposit trigliserit akümülyasyonuna testosteron düzeyinin baskılanması sonucu artmış lipoprotein lipaz aktivitesinin aracılık edebileceği ileri sürülmüştür [290]. Diğer bir çalışmamızda, içme suyu içinde fruktoz tüketen sıçan plazma serbest ve total testosteron düzeyleri değişmezken, adipoz doku testosteron miktarında anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada fruktoz tüketiminin plazma östrojen düzeyinde değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir [20]. Çalışmalar fruktoz tüketimi sonucu testosteron düzeyinin baskılanmasına; fruktoz tüketiminin miktarı ve süresiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu tez çalışmasındaki hormonal değişikliklere ait sonuçlar, literatürdeki orta-uzun süreli yüksek fruktoz tüketimi çalışma bulgularını desteklemektedir.

Metabolik sendromda görülen testosteron düzeyi baskılanmasının, inflamatuvar sitokinlerin (TNF α , IL-6 ve IL-1 β gibi) artışıyla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür [287]. Hipogonadal erkeklerde yapılan çalışmalarda testosteron tedavisinin TNF α ve IL-1 β düzeyini baskıladığı bildirilmiştir [129]. Yem ve içme suyu içinde fruktoz içeren diyetle beslenen hayvanların çeşitli dokularında inflamasyonun tetiklendiği bildirilmiştir [56, 234, 237, 239]. Fruktoz tüketiminin inflamatuvar faktörler üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda; içme suyu içinde fruktoz tüketiminin serum, hepatik, aorta ve renal NF- κ B, TNF α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerini artırarak inflamasyona ve doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir [216, 235, 238].

Laboratuvarımızda fruktoz tüketiminin etkilerinin incelendiği çalışmalarda; fruktoz diyetinin plazma, karaciğer, aorta, ileum ve renal dokularda inflamasyonu tetiklediği gösterilmiştir [56, 57, 213, 214]. Tip 2 diyabetin testiküler inflamatuvar belirtiler üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, diyabetik sıçan testis dokusunda dejenerasyon, inflamasyon ve nekroz olduğu gösterilmiştir [292]. Obezitenin testiküler inflamasyon üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde testosteron düzeyinin baskılanmasına, testiküler TNF α , IL-1 β ve NF-kB ekspresyon artışının eşlik ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, obez hayvanlarda inflamasyon artışının testiküler harabiyete neden olduğu ileri sürülmüştür [293]. Yüksek fruktozlu mısır şurubuyla beslenen hayvanların testiküler iNOS artışına hafif-orta dereceli testis dejenerasyonun eşlik ettiği gösterilmiştir [32]. Yapılan çalışmalar fruktoz tüketiminin testiküler dokuda inflamasyona neden olabileceğini gösterse de, literatürde bu konuyla ilgili çalışmalarının sınırlı olduğu görülmüştür. Laboratuvarımızda yaptığımız ve bu tezin bir parçası olan çalışmamızda, fruktoz tüketiminin testiküler iNOS, p-NF-kB, NF-kB, IL-1 β ve TNF α düzeylerini artırarak doku hasarına neden olduğu gösterilmiştir [21]. Bu tez çalışmasında fruktoz tüketiminin testiküler IL-1 β ve TNF α düzeylerini artırdığı gösterilmiş olup, literatür bilgisiyle paralellik göstermektedir. Fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, içme suyu içinde %10 fruktoz tüketen Wistar sıçanların seminifer tübüllerinde dejeneratif değişikliklerin olduğu bildirilmiştir [22]. Fruktozca zengin diyetle beslenen sıçanların spermatojenik hücrelerinde vakuolizasyonlar ve Sertoli hücrelerde dejenerasyon geliştiği bildirilmiştir [37]. Son çalışmamızda fruktoz tüketiminin testiküler dokuda vakuoler ve intratübüler dejenerasyon oluşturduğu gösterilmiştir. Ek olarak, kontrol grubunda gözükmemesine karşın, fruktoz tüketen sıçan seminifer tübülünde debris akümüasyonu ve nekrotik materyal gözlenmiştir [21]. Bu tez çalışmasında yayınladığımız çalışmayla benzer sonuçlar gözlenmiştir. Ek olarak, bu tez çalışmasında fruktoz tüketiminin testis seminifer tübüllerde düzensizlik ve germ hücre dejenerasyonu gözlemlenmiştir. Yukarıdaki sonuçlar göz önüne alındığında çalışmamız, yüksek fruktoz diyetinin testiküler inflamasyon başlatabileceğini ve testosteron düzeyi baskılanmasıyla birlikte dejeneratif ve nekrotik değişiklikleri tetikleyebileceğini ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmalarda fruktoz tüketiminin hiperglisemiyle birlikte insülin direnci ve oksidatif strese neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, ROS artışının hücre fizyolojisini bozarak inflamatuvar ve apoptotik cevaplara neden olduğu ileri sürülmüştür [216, 223, 224]. Araştırmacılar, plazma testosteron düzeyinin baskılanmasının testiküler oksidatif stresi artırarak apoptozisi indükleyebileceğini öne sürmektedirler [23, 24]. Fruktoz diyetinin testiküler oksidatif stres üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, fruktozca zengin diyet ile beslenen hayvanlarda testiküler oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir [324, 325]. Yüksek fruktozlu mısır şurubuyla beslenen sıçanların testiküler oksidatif stres belirteçleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, testis dokusunda oksidatif stres artışına inflamasyonun eşlik ederek spermatogenezin baskılandığı bildirilmiştir [32]. Fruktoz tüketiminin testiküler doku üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, içme suyu içinde %30 oranında fruktoz tüketiminin testiküler oksidatif stresin artırdığı ve inflamasyonu tetiklemesinin yanı sıra seminifer tübülde yapısal bozukluklar ve germ hücre kaybına neden olduğu bildirilmiştir [25, 31]. Laboratuvarımızda yaptığımız ve sunulan tezle ilgili bir kısmın olduğu çalışmamızda; içme suyu içinde 15 hafta boyunca %20 fruktoz tüketen sıçan testiküler Bcl-2 mRNA ve protein düzeylerinin baskılandığı bildirilmiştir. Ayrıca, fruktoz diyetinin testiküler caspase3 mRNA ve protein düzeyinde artış eğilimi oluştursa da, bu farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır [33]. Bu tez çalışmasındaki bulgular, fruktoz tüketiminin testis Bcl-2 mRNA ve protein ekspresyonunu baskıladığı, caspase3 mRNA ve protein düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Apoptotik hücre ölümü, Bcl-2 familyası proteinleri ve caspaselar dahil olmak üzere apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile düzenlenmektedir [346]. Apoptozis sırasında mitokondriden sitokrom c salınımı Bcl-2 protein ailesi veya caspase2 aktivasyonu sonucu gerçekleşmektedir [347]. Mitokondriyal oksidatif stres cevabının oluşmadığı durumlarda, hücre içi caspase8 düzeyi artışının, mitokondriyal caspase kaskadlarını aktive edebileceği ileri sürülmüştür [348]. Literatürdeki çalışmalar ve bu tez çalışmasındaki bulgular fruktoz tüketimi sonucu Bcl-2 düzeyinin baskılanarak apoptozisi tetikleyebileceğini ileri sürebilir ancak, fruktoz tüketiminin caspase3 düzeyini değiştirmemesi diğer apoptotik proteinlerin araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu sebeple, bu tez çalışmasında fruktoz tüketiminin p53 ve caspase8 düzeyleri üzerine etkilerinin incelenmesi için immunohistokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Endosulfan ile indüklenen oksidatif

stresin rat testiküler caspase3, caspase8 ve caspase9'u artırdığı bildirilmiştir [349]. Sertoli hücrelere DHT uygulamasının *p53*, *caspase3* ve *caspase9* mRNA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [24]. Yüksek yağlı diyetle beslenerek obez yapılan hayvan testis incelendiğinde, *bcl-2* mRNA ekspresyonu baskılanmasına *p53*, *bax*, *caspase8*, *caspase9* ve *caspase3* mRNA düzeylerindeki artışın eşlik ettiği gösterilmiştir [285]. Spermatogenez sırasında normal germ hücre gelişimini sürdürmek ve normal sperm elde etmek için germ hücrelerinde apoptotik yolak aktivasyonunun gerekli olduğu ileri sürülmektedir [350]. Obezitenin spermatogenez üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, obez sıçan testiküler p53 protein düzeyi artışına karşın kontrol hayvan spermatozoalarında p53 pozitif hücre tespit edilmiştir. Araştırmacılar, p53 aktivasyonunun spermatozoa gelişimi için önemli olabileceğini ileri sürmektedirler [286]. İmmunohistokimyasal çalışmalarımızda, kontrol grubu spermatogoniumlarında caspase8 ve p53 pozitif hücre gösterilmiştir. Fruktoz tüketiminin spermatogonium caspase8 ve p53 düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgular, spermatogoniumun normal işleyişini sürdürebilmesi için caspase8 ve p53 aktivitesine ihtiyaç duyduğunu göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca fruktoz tüketen grup spermatid ve Leydig hücrelerinde caspase8 düzeyinin arttığı saptanmıştır. Bu hücrelerde apoptotik yolların tetiklenmiş olabileceği düşünülmektedir. Literatürdeki bulgular ve bu tez çalışmasındaki sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, yüksek fruktoz diyetinin testiküler apoptozisi tetikleyebileceği gösterilmekle birlikte spermatogonium gelişimi için p53 ve caspase8 aktivitesinin önemli olabileceği söylenebilir.

Yüksek fruktoz tüketimi kaynaklı testiküler inflamasyon ve apoptozisin, insülin sinyaliyle ilişkisinin incelenmesi amacıyla testiküler insülin sinyal yolağı proteinleri araştırılmıştır. Hücresel düzeyde insülin sinyal yolağı sırasıyla IR, IRS-1/2, PI3K ve Akt uyarılması olduğu bilinmektedir [145]. Akt glukoz metabolizması, büyüme faktörleri düzenlenmesi ve hücre sağ kalımı gibi çeşitli hücresel süreçlerde rol alan anahtar bir proteindir [146]. Fruktoz tüketiminin hepatik insülin sinyal yolağı üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada; içme suyu içerisinde yüksek fruktoz (%20) içeren diyet ile beslenen farelerin karaciğer dokularındaki GLUT-4 ve PI3K protein düzeylerinin yanı sıra p-IRS-1/IRS-1 ve p-Akt/Akt oranlarının anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada fare karaciğer IR protein düzeyinin fruktoz tüketiminden etkilenmediği bildirilmiştir [206]. Diğer bir çalışmada içme

suyu içinde %30 fruktoz tüketmiş fare aortta halkalarında PI3K, p-Akt ve Akt protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir [216]. Birçok araştırma insülin tarafından uyarılan PI3K/Akt yolağının, eNOS'u aktive ettiğini, ayrıca insülin direnci ile azalan eNOS ekspresyonu arasında ilişki olabileceğini ileri sürmüştür [43]. İçme suyu içinde %10 fruktoz tüketen sıçanların aort ve karaciğerlerinde insülin sinyal yolağının düzenlenmesinden sorumlu IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt ve eNOS gibi proteinlerin düzeylerinin baskılandığı tespit edilmiştir [210]. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanların serum ve aorta dokusunda eNOS protein düzeyinin baskılanarak endotel disfonksiyonu geliştiği bildirilmiştir [217, 218]. SIRT1 dokularda enerji mekanizmalarının ve Akt tekrar aktivasyonu için gerekli bir proteindir [165]. Fruktoz tüketimi sonucu sıçan karaciğerde gözlenen fibrozis ile azalmış SIRT1 protein düzeyinin ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [238]. Laboratuvarımızda yaptığımız çalışmada, %10 fruktoz içeren diyetle 24 hafta süresince beslenen dişi sıçanların aorta *irs-2*, *enos* ve *sirt1* mRNA ekspresyonlarının azaldığı saptanmıştır. Ancak erkek sıçanlarda *irs-2* ve *enos* gen ekspresyonları azalma eğilimi gösterirken, *sirt1* mRNA düzeyinde herhangi bir değişimin olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen dişi ve erkek sıçan aorta halkasında eNOS protein düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir [215]. Benzer bir çalışmamızda, içme suyu içinde yüksek fruktoz (%20 oranında; 15 hafta) tüketen sıçanlarda hepatik *irs-1* ve *irs-2* mRNA ekspresyonlarının yanı sıra adipoz doku *irs-1*, *irs-2* ve *enos* mRNA düzeylerinin baskılandığı gösterilmiştir. Ayrıca, fruktoz tüketen hayvanlarda hepatik IRS-1, IRS-2, p-Akt ve p-eNOS protein düzeylerinin azaldığı saptanmıştır [56]. Yüksek fruktoz tüketiminin renal insülin sinyal yolağı proteinleri üzerine etkilerini incelediğimiz çalışmamızda; içme suyu içinde %20 fruktozu 15 hafta boyunca tüketen sıçanlarda *irs-1* mRNA ekspresyonunun baskılanmasına, IRS-1, Akt ve eNOS protein düzeylerinin azalmasının eşlik ettiği saptanmıştır [57].

Testiküler insülin sinyal proteinleri Sertoli hücre sayı ve büyüklüğünü düzenlemesinin yanı sıra gonadların gelişmesinde önemli görevler almaktadırlar [40-42, 154]. Fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol alan nitrik oksit molekülü, eNOS ve nNOS aracılığıyla üretilmektedir [351]. Reprodüktif sistemde küçük miktarda ve düzenli olarak salgılanan nitrik oksit, testiküler mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde, reaktif oksijen türlerinin nötralize

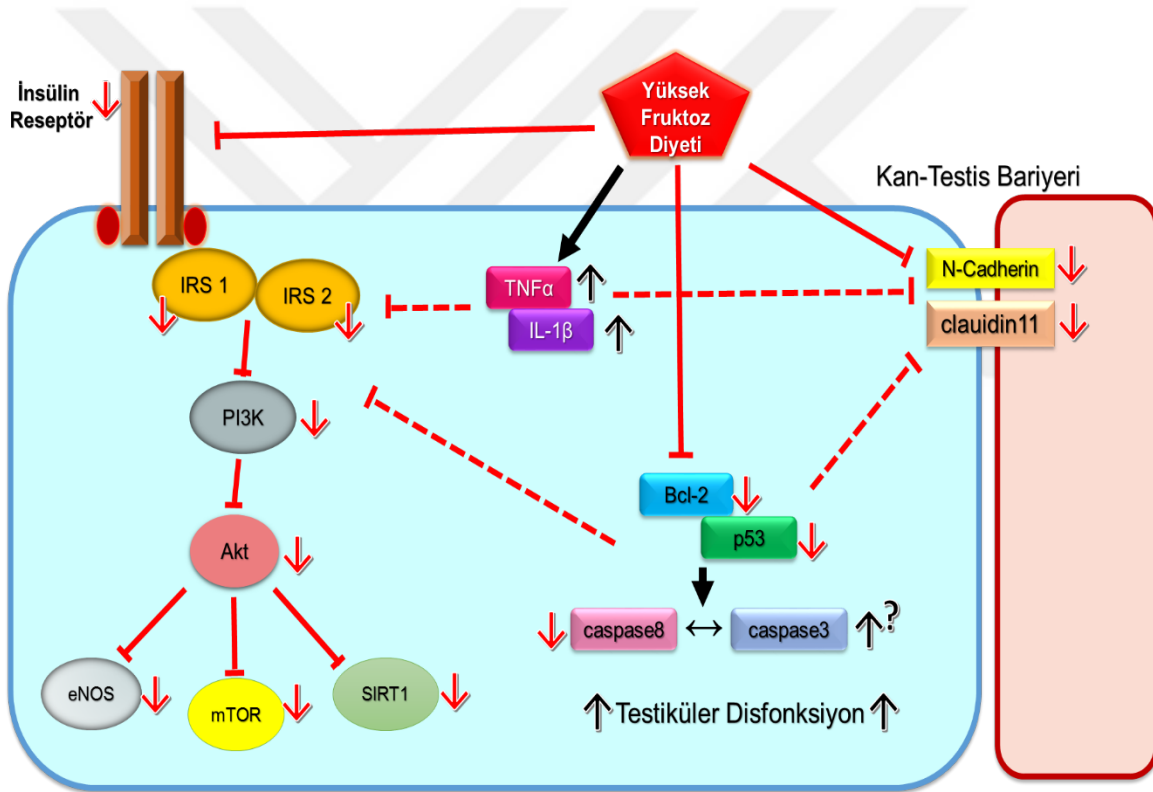
edilmesinde ve sperm hasarında koruyucu olarak görev aldığı ileri sürülmüştür [46, 352]. İnsülin sinyal yolağı tarafından uyarılabilen mTOR'un KTB'nin düzenlenmesin ve spermatogenezde görev aldığı bilinmektedir [50, 51]. Ayrıca, rapamisin tarafından baskılanan mTOR'un infertiliteye neden olduğu saptanmıştır [52]. SIRT1 knockout hayvanlarda yapılan araştırmalarda, germ hücre apoptozisinin tetiklenebileceği ve spermatogenezin baskılabileceği ileri sürülmüştür [170, 172]. Yapılan çalışmalarda, Tip 1 ve Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş hayvan testiküler IRS-1 mRNA ve protein ekspresyonunun yanı sıra p-Akt ve SIRT1 protein düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir [271, 299]. Hiperglisemik hayvanlarda plazma testosteron düzeyi azalışına testis insülin, IR, IRS-1, IRS-2 ve PI3K protein düzeylerinin baskılanmasının eşlik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, hipergliseminin testiküler GLUT2 ve GLUT8 düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır [156, 157]. Obez hayvanlarda yapılan çalışmalarda testiküler dokuda inflamatuvar belirteçlerin artışına; testosteron düzeyi ve insülin sinyal yolağı proteinleri baskılanmasının eşlik ettiği gösterilmiştir [293, 303]. Fruktoz ve yüksek yağ içeren diyetle beslenip insülin direnci geliştiği gösterilen Wistar sıçanların epididimal ve visseral adipoz dokudaki p-IRS-1, p-Akt ve GLUT4 protein düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir [231]. Bu tez çalışmasında, insülin sinyal yolağı proteinlerinin Real Time-qPCR yöntemiyle ölçülen testis *irs-1*, *irs-2*, *pi3k* ve *mtor* mRNA ekspresyonları kontrol grubuna göre azalırken, *ir*, *akt* ve *enos* mRNA miktarlarında değişimin olmadığı saptanmıştır. Yüksek fruktoz içeren diyet ile beslenen sıçanlar için Western-Blot yöntemiyle ölçülen testis IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, eNOS ve mTOR protein düzeyleri anlamlı bir şekilde azalırken, Akt protein miktarında herhangi bir anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Aksine p-Akt protein düzeyi ve proteinin etkililik göstergesi olan p-Akt/Akt oranı ise fruktoz tüketen grupta azalmış olduğu saptanmıştır. Ayrıca fruktoz tüketimi sonucu testis p-eNOS protein düzeyi ve p-eNOS/eNOS oranının dramatik bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Ek olarak bu tez çalışmasında fruktoz tüketen sıçan testis SIRT1 mRNA ekspresyonunda değişim gözlenmezken, SIRT1 protein düzeyinde azalmanın olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasındaki bulgular, farklı dokulardaki sonuçları destekler nitelikte olup, fruktoz tüketiminin testiküler insülin direncine neden olduğunu ilk defa göstermesi açısından önemlidir.

İnsan ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalar, GLUT5'in fruktozun testis ve spermatozoaya alınmasından sorumlu olduğunu bildirmiştir [353, 354]. Bir haftalık prepubertal farelere 6 hafta süresince yüksek fruktoz içeren diyetle beslenme sonucu testis GLUT5 mRNA ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir [354]. Bu tez çalışmasında fruktoz tüketen sıçan testis dokusunda GLUT5 protein düzeyinde anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Farelerde yapılan çalışmalarda Kan-Testis Bariyeri proteinlerinden claudin11'in spermatogenez için önemli olduğu ve claudin11 geni silinmiş hayvanlarda infertilite görüldüğü ileri sürülmüştür [355, 356]. Yetişkin sıçan testisine rekombinant TNF α uygulaması sonucu KTB proteinlerinden occludin1 ve N-cadherin düzeylerinde azalmanın olduğu claudin11 miktarının etkilenmediği bildirilmiştir [357]. Toksik maruziyeti sonucu testiküler inflamasyon gelişen farelerde occludin ve N-cadherin protein düzeylerinin baskılanması sonucu KTB bütünlüğünün bozulduğu saptanmıştır [34]. Tip 1 diyabetin KTB üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada occludin, claudin11 ve N-cadherin protein düzeylerinin baskılanarak KTB hasarına neden olduğu saptanmıştır [317]. Araştırmalarda, yüksek yağ içeren diyetin neden olduğu obezitede testiküler inflamasyonun tetiklenebileceği ve KTB bütünlüğünün bozulabileceği ileri sürülmüştür [275, 358]. Obezitenin KTB bütünlüğü üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada yüksek yağlı diyetle obez yapılan hayvanların testiküler occludin, β -katenin, ZO-1 ve N-cadherin protein düzeyi değişikliklerinin KTB bütünlüğünün bozulmasına aracılık ettiği ileri sürülmüştür [318]. Bu tez çalışmasında Western-blot çalışmaları sonucunda fruktoz tüketiminin KTB proteinlerinden claudin11 ve N-cadherin düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığı saptanmıştır. İnsülin sinyal yolağında görev alan PI3K, Akt ve mTOR proteinlerinin Sertoli hücre proliferasyonunda görevli olduğu ileri sürülmüştür [53]. Çalışmalar, mTOR'un KTB proteinlerinde occludin ve claudin11 düzenlenmesinde etkin rol oynadığı ifade edilmiştir [54, 55]. Ayrıca, deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda N-cadherin regülasyonunda eNOS'un görev aldığı ileri sürülmüştür [49]. Bu veriler, fruktoz tüketimi sonucu testiküler inflamasyon ve apoptozis artışıyla birlikte insülin sinyal yolağı baskılanmasının, KTB bileşiminde görev alan protein düzeylerini azaltmış olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, diyabet ve obezite gibi metabolik bozukluklarda KTB proteinlerinin baskılanarak infertiliteye neden olabileceğini gösteren çalışmalar ile elde ettiğimiz benzer

sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; fruktoz tüketiminin KTB proteinlerini baskılayarak infertiliteye neden olabileceği düşünülmektedir.

Yüksek fruktoz diyetinin testiküler dokuda, inflamatuvar ve apoptotik yolları uyarak, insülin sinyal yolağı ve KTB proteinlerini baskıladığını gösteren verilerimiz, metabolik sendroma eşlik eden infertilitenin önlenmesi ve tedavisi için yeni yaklaşımların belirlenmesinde öncü rol oynayacaktır. Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz diyetinin testiküler inflamasyon, apoptozis, KTB ve insülin sinyal yolağı ile ilgili gen ve proteinler üzerine etkisini göstere sonuçlarımız Şekil 5.1'de sunulmuştur.



Şekil 5.1. Yüksek fruktoz diyetinin testiküler doku üzerine etkisini gösteren sonuçlarımız

Yüksek fruktoz diyetinin etkisini kırmızı oklar ile gösterilmiştir. Yukarı yön belirtecin arttığı, aşağı yönlü oklar azaldığını göstermektedir. Soru işareti, ilgili yöndeki eğilimi göstermektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, fruktoz tüketimi artışının sedanter yaşam tarzını benimsemiş toplumlarda metabolik sendrom görülme sıklığını tetikleyebileceği görülmektedir. Araştırmalar, yüksek fruktoz tüketiminin insülin direnci, hipertrigliseridemi, abdominal yağlanma, hipertansiyon ve hepatik steatosis ile karakterize metabolik sendroma neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, metabolik sendromun erkeklerde hipogonadizmle birlikte seyrettiği bilinmektedir. Araştırmacılar, obez olmayan bireylerde testosteron düzeyi düşüklüğünün insülin direnci ve metabolik sendrom habercisi olabileceğini ileri sürmektedir. Yüksek fruktoz diyetinin infertilite üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, fruktoz tüketiminin testosteron düzeyini baskılayarak sperm parametreleri üzerine olumsuz etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Metabolik sendrom kaynaklı oluşabilecek infertilite mekanizmalarının aydınlatılması, tedavi yöntemlerinin bulunması adına son derece önemlidir. Araştırmalarda, testiküler oksidatif stres, apoptozis ve inflamasyon artışının; testosteron düzeyini baskılamasının yanı sıra KTB bütünlüğünü bozarak sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği bildirilmiştir. Testiküler insülin sinyal yolağı, KTB bütünlüğünün korunması ve spermatogenezin sürdürülebilmesinde görev almaktadır. Fruktoz tüketiminin çeşitli dokularda inflamasyonu ve apoptozisi tetiklemenin yanı sıra insülin direnci geliştirdiği gösterilmiştir. Ancak, fruktoz tüketiminin testiküler inflamasyon, apoptozis ve insülin sinyal yolağı üzerine etkileri ve KTB proteinleri ile ilişkisi bilinmemektedir. Bu sebeple, bu tez çalışmasında 15 hafta süre ile içme suyu içinde %20 oranında fruktoz tüketen erkek Wistar sıçanların testiküler endokrin, inflamatuvar, apoptotik, insülin sinyal yolağı ve KTB parametreleri incelenmiştir. Yüksek fruktoz diyetinin testis dokusu üzerine etkileri Şekil 5.1’de özetlenmiştir. Bu tez çalışmasında, 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu tükettirilen sıçanlarda hiperglisemi, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi ve düşük testiküler testosteron düzeyi gibi bozuklukların olduğu saptanmıştır. Ayrıca, fruktoz tüketiminin testis dokusunda inflamatuvar belirteçlerden TNF α ve IL-1 β düzeyini artırdığı saptanmıştır. Ek olarak, fruktoz tüketiminin testis *bcl-2* mRNA ve protein düzeyini baskılayarak testiküler apoptozisi tetiklediği

saptanmıştır. p53 ve caspase8 aktivasyonunun, spermatogonia işleyişi için gerekli olabileceği önerilmiştir. Bu tez çalışmasında, fruktozun testiküler gelişim, spermatogenez ve KTB'nin düzenlenmesinden sorumlu insülin sinyal yolağı parametreleri üzerine etkileri de incelenmiştir. Fruktoz tüketimi sonucu *irs-1*, *irs-2*, *pi3k* ve *mtor* mRNA ekspresyonlarının baskılandığı; IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, mTOR ve SIRT1 protein düzeylerinin azaldığını tespit ettik. Ek olarak, testis Akt ve eNOS aktivasyonlarının fruktoz tüketimi sonucunda baskılandığını saptadık. Testiküler gelişimden sorumlu insülin sinyal yolağı ve testiküler mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde görev alan nitrik oksit sentezinden sorumlu eNOS aktivasyonunun azalması, testis hasarının oluşmasına ve testosteron düzeyinin düşmesine neden olan etkenlerden biri olabilir. Histolojik incelemelerde, fruktoz diyetinin testis doku dejenerasyonunu artırdığını gösterdik. Ayrıca, fruktoz alan sıçan seminifer tübülünde nekroz kalıntıları ve debris birikimi saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda, sperm oluşumundan sorumlu germ hücrelerini bağışıklık sisteminden koruyan KTB bütünlüğü bozulmasının, kısırlıkla doğrudan ilgili olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple, fruktoz tüketimi sonucu azalan claudin11 ve N-cadherin düzeyleri, bu diyetin KTB yapısının bozduğunu göstermesi açısından son derece önemlidir. Ayrıca, bu tez çalışmasındaki veriler, son yıllarda diyet içinde tüketimi artmakta olan fruktozun, erkek reproduktif sistemde insülin sinyal yolağını baskıladığını, inflamasyonu ve apoptozisi tetiklediğini göstermektedir. Bu bulgular, fruktoz tüketimi kaynaklı oluşabilecek infertilitenin önlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Tappy, L. (2018). Fructose-containing caloric sweeteners as a cause of obesity and metabolic disorders. *Journal of Experimental Biology*, 221(Pt Suppl 1).
2. Fisberg, M., Kovalskys, I., Gómez, G., Rigotti, A., Sanabria, L. Y. C., García, M. C. Y., Torres, R. G. P., Herrera-Cuenca, M., Zimberg, I. Z., Koletzko, B., Pratt, M., Aznar, L. A. M., Guajardo, V., Fisberg, R. M., Sales, C. H., ve Previdelli Á, N. (2018). Total and Added Sugar Intake: Assessment in Eight Latin American Countries. *Nutrients*, 10(4).
3. Lelis, D. d. F., Andrade, J. M. O., Almenara, C. C. P., Broseguini-Filho, G. B., Mill, J. G., ve Baldo, M. P. (2020). High fructose intake and the route towards cardiometabolic diseases. *Life Sciences*, 259, 118235.
4. İnternet: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. (2019). Obezite tanı ve tedavi kılavuzu. Web: https://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20190506163904-2019tbl_kilavuz5ccdc9e5d.pdf adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
5. Hirode, G., ve Wong, R. J. (2020). Trends in the Prevalence of Metabolic Syndrome in the United States, 2011-2016. *The Journal of the American Medical Association*, 323(24), 2526-2528.
6. Gundogan, K., Bayram, F., Gedik, V., Kaya, A., Karaman, A., Demir, O., Sabuncu, T., Kocer, D., ve Coskun, R. (2013). Metabolic syndrome prevalence according to ATP III and IDF criteria and related factors in Turkish adults. *Archives of Medical Science*, 9(2), 243-253.
7. Oğuz, A., Kılıçkap, M., Güleç, S., Altuntaş, Y., Karşıdağ, K., Temizhan, A., Tümerdem, B., Keskinler, M. V., Rangarajan, S., ve Yusuf, S. (2020). Risk of cardiovascular events in patients with metabolic syndrome: Results of a population-based prospective cohort study (PURE Turkey). *Anatolian Journal of Cardiology*, 24(3), 192-200.
8. İnternet: World Health Organization. (2021). World health statistics 2021: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Web: <https://www.who.int/data/gho/publications/world-health-statistics> adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
9. Hales, C. M., Carroll, M. D., Fryar, C. D., ve Ogden, C. L. (2020). Prevalence of Obesity and Severe Obesity Among Adults: United States, 2017-2018. *National Center for Health Statistics Data Brief*(360), 1-8.

10. Internet: World Obesity Federation. (2020). Obesity: missing the 2025 global targets. Web: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=2> adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
11. Caldas, A. D., Porto, A. L., Motta, L. D., ve Casulari, L. A. (2009). Relationship between insulin and hypogonadism in men with metabolic syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 53(8), 1005-1011.
12. Dhindsa, S., Miller, M. G., McWhirter, C. L., Mager, D. E., Ghanim, H., Chaudhuri, A., ve Dandona, P. (2010). Testosterone concentrations in diabetic and nondiabetic obese men. *Diabetes Care*, 33(6), 1186-1192.
13. Ebrahimi, F., Schuetz, P., Mueller, B., Urwyler, S. A., Donath, M. Y., ve Christ-Crain, M. (2017). *Effects of IL-1 [beta] on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in men with obesity and metabolic syndrome-A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Paper presented at the 19th European Congress of Endocrinology.
14. Wickramatilake, C. M., Mohideen, M. R., ve Pathirana, C. (2015). Association of metabolic syndrome with testosterone and inflammation in men. *Annales d'Endocrinologie*, 76(3), 260-263.
15. Traish, A. M., ve Johansen, V. (2018). Impact of Testosterone Deficiency and Testosterone Therapy on Lower Urinary Tract Symptoms in Men with Metabolic Syndrome. *The World Journal of Men's Health*, 36(3), 199-222.
16. Choudhury, B. K., Choudhury, S. D., Saikia, U. K., ve Sarma, D. (2013). Gonadal function in young adult males with metabolic syndrome. *Diabetes and Metabolic Syndrome*, 7(3), 129-132.
17. Chrysohoou, C., Panagiotakos, D., Pitsavos, C., Siasos, G., Oikonomou, E., Varlas, J., Patialiakas, A., Lazaros, G., Psaltopoulou, T., Zaromitidou, M., Kourkouti, P., Tousoulis, D., ve Stefanadis, C. (2013). Low total testosterone levels are associated with the metabolic syndrome in elderly men: the role of body weight, lipids, insulin resistance, and inflammation; the Ikaria study. *The Review of Diabetic Studies*, 10(1), 27-38.
18. Selvin, E., Feinleib, M., Zhang, L., Rohrmann, S., Rifai, N., Nelson, W. G., Dobs, A., Basaria, S., Golden, S. H., ve Platz, E. A. (2007). Androgens and diabetes in men: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Diabetes Care*, 30(2), 234-238.
19. Dandona, P., ve Dhindsa, S. (2011). Update: Hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes and obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(9), 2643-2651.

20. Pektas, M. B., Koca, H. B., Sadi, G., ve Akar, F. (2016). Dietary Fructose Activates Insulin Signaling and Inflammation in Adipose Tissue: Modulatory Role of Resveratrol. *BioMed Research International*, 2016, 8014252.
21. Yildirim, O. G., Sumlu, E., Aslan, E., Koca, H. B., Pektas, M. B., Sadi, G., ve Akar, F. (2019). High-fructose in drinking water initiates activation of inflammatory cytokines and testicular degeneration in rat. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(3), 224-232.
22. Tkachenko, O. Y., Shayakhmetova, G. M., Matvienko, A. V., ve Kovalenko, V. M. (2020). Reproductive disorders in male rats induced by high-fructose consumption from juvenile age to puberty. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 71(1), 78-86.
23. Chaki, S. P., Misro, M. M., Gautam, D. K., Kaushik, M., Ghosh, D., ve Chainy, G. B. (2006). Estradiol treatment induces testicular oxidative stress and germ cell apoptosis in rats. *Apoptosis*, 11(8), 1427-1437.
24. Simoes, V. L., Alves, M. G., Martins, A. D., Dias, T. R., Rato, L., Socorro, S., ve Oliveira, P. F. (2013). Regulation of apoptotic signaling pathways by 5alpha-dihydrotestosterone and 17beta-estradiol in immature rat Sertoli cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 135, 15-23.
25. Meydanli, E. G., Gumusel, A., Ozkan, S., Tanriverdi, G., Balci, M. B. C., Develi Is, S., Hazar, A. I., Uysal, M., ve Bekpinar, S. (2018). Effects of resveratrol on high-fructose-induced testis injury in rats. *Ultrastructural Pathology*, 42(1), 65-73.
26. Sharpe, R. M., McKinnell, C., Kivlin, C., ve Fisher, J. S. (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, 125(6), 769-784.
27. Stanton, P. G. (2016). Regulation of the blood-testis barrier. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 59, 166-173.
28. Youssef, D. A., El-Fayoumi, H. M., ve Mahmoud, M. F. (2019). Beta-caryophyllene protects against diet-induced dyslipidemia and vascular inflammation in rats: Involvement of CB2 and PPAR- γ receptors. *Chemico-Biological Interactions*, 297, 16-24.
29. Vasiljević, A., Bursać, B., Djordjevic, A., Milutinović, D. V., Nikolić, M., Matic, G., ve Veličković, N. (2014). Hepatic inflammation induced by high-fructose diet is associated with altered 11 β HSD1 expression in the liver of Wistar rats. *European Journal of Nutrition*, 53(6), 1393-1402.

30. Pektas, M. B., Yucel, G., Koca, H. B., Sadi, G., Yildirim, O. G., Ozturk, G., ve Akar, F. (2017). Dietary Fructose-Induced Hepatic Injury in Male and Female Rats: Influence of Resveratrol. *Drug Research*, 67(2), 103-110.
31. Dokumacioglu, E., Iskender, H., Yenice, G., Kapakin, K. A. T., Sevim, C., Hayirli, A., Saral, S., ve Comakli, S. (2018). Effects of astaxanthin on biochemical and histopathological parameters related to oxidative stress on testes of rats on high fructose regime. *Andrologia*, 50(7), e13042.
32. Aslankoc, R., ve Ozmen, O. (2019). The effects of high-fructose corn syrup consumption on testis physiopathology-The ameliorative role of melatonin. *Andrologia*, 51(8), e13327.
33. Yildirim, O. G., Sadi, G., ve Akar, F. (2020). Lactobacillus plantarum and Lactobacillus helveticus modulate SIRT1, Caspase3 and Bcl-2 in the testes of high-fructose-fed rats. *Journal of the Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, 50(3), 168-176.
34. Cao, Z., Huang, W., Sun, Y., ve Li, Y. (2020). Deoxynivalenol induced spermatogenesis disorder by blood-testis barrier disruption associated with testosterone deficiency and inflammation in mice. *Environmental Pollution*, 264, 114748.
35. Gurel, C., Kuscu, G. C., Buhur, A., Dagdeviren, M., Oltulu, F., Karabay Yavasoglu, N. U., ve Yavasoglu, A. (2019). Fluvastatin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats by reducing oxidative stress and regulating the blood-testis barrier via mTOR signaling pathway. *Human and Experimental Toxicology*, 38(12), 1329-1343.
36. Liu, Y., Yang, Z., Kong, D., Zhang, Y., Yu, W., ve Zha, W. (2019). Metformin Ameliorates Testicular Damage in Male Mice with Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes through the PK2/PKR Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 5681701.
37. El-Mehi, A. E., ve Faried, M. A. (2020). Effect of high-fructose diet-induced metabolic syndrome on the pituitary-gonadal axis from adolescence through adulthood in male albino rats and the possible protective role of ginger extract. A biochemical, histological and immunohistochemical study. *Folia Morphologica*, 79(4), 690-708.
38. Medaglia, D. S. A., Vieira, H. R., Silveira, S. D. S., Siervo, G., Marcon, M., Mathias, P. C. F., ve Fernandes, G. S. A. (2021). High-fructose diet during puberty alters the sperm parameters, testosterone concentration, and histopathology of testes and epididymis in adult Wistar rats. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 1-8.

39. Ramírez, N. D., Luque, E. M., Jones, X. M., Torres, P. J., Moreira Espinoza, M. J., Cantarelli, V., Ponzio, M. F., Arja, A., Rabaglino, M. B., ve Martini, A. C. (2019). Modulatory effects of ghrelin on sperm quality alterations induced by a fructose-enriched diet. *Heliyon*, 5(11), e02886.
40. Pitetti, J. L., Calvel, P., Zimmermann, C., Conne, B., Papaioannou, M. D., Aubry, F., Cederroth, C. R., Urner, F., Fumel, B., Crausaz, M., Docquier, M., Herrera, P. L., Pralong, F., Germond, M., Guillou, F., Jégou, B., ve Nef, S. (2013). An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice. *Molecular Endocrinology*, 27(5), 814-827.
41. Nef, S., Verma-Kurvari, S., Merenmies, J., Vassalli, J. D., Efstratiadis, A., Accili, D., ve Parada, L. F. (2003). Testis determination requires insulin receptor family function in mice. *Nature*, 426(6964), 291-295.
42. Griffeth, R. J., Carretero, J., ve Burks, D. J. (2013). Insulin receptor substrate 2 is required for testicular development. *PloS One*, 8(5), e62103.
43. Eccleston, H. B., Andringa, K. K., Betancourt, A. M., King, A. L., Mantena, S. K., Swain, T. M., Tinsley, H. N., Nolte, R. N., Nagy, T. R., Abrams, G. A., ve Bailey, S. M. (2011). Chronic exposure to a high-fat diet induces hepatic steatosis, impairs nitric oxide bioavailability, and modifies the mitochondrial proteome in mice. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(2), 447-459.
44. Tateya, S., Rizzo, N. O., Handa, P., Cheng, A. M., Morgan-Stevenson, V., Daum, G., Clowes, A. W., Morton, G. J., Schwartz, M. W., ve Kim, F. (2011). Endothelial NO/cGMP/VASP signaling attenuates Kupffer cell activation and hepatic insulin resistance induced by high-fat feeding. *Diabetes*, 60(11), 2792-2801.
45. Ying, H. Q., Pu, X. Y., Liu, S. R., ve A, Z. C. (2013). Genetic variants of eNOS gene may modify the susceptibility to idiopathic male infertility. *Biomarkers*, 18(5), 412-417.
46. Lee, N. P., ve Cheng, C. Y. (2004). Nitric oxide/nitric oxide synthase, spermatogenesis, and tight junction dynamics. *Biology of Reproduction*, 70(2), 267-276.
47. Ishikawa, T., Kondo, Y., Goda, K., ve Fujisawa, M. (2005). Overexpression of endothelial nitric oxide synthase in transgenic mice accelerates testicular germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism. *Journal of Andrology*, 26(2), 281-288.
48. Jin, B., Sun, D., Dong, W., Chen, B., Deng, W., Cai, B., Cui, Y., Jin, Y., Liu, J., Tong, L., ve Wu, P. (2020). Yangjing Capsule Can Improve the Function of the Testicular Angiogenesis through Activating VEGFA/eNOS Signaling

Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1957267.

49. Lee, N. P., Mruk, D. D., Wong, C. H., ve Cheng, C. Y. (2005). Regulation of Sertoli-germ cell adherens junction dynamics in the testis via the nitric oxide synthase (NOS)/cGMP/protein kinase G (PRKG)/beta-catenin (CATNB) signaling pathway: an in vitro and in vivo study. *Biology of Reproduction*, 73(3), 458-471.
50. Deng, C. Y., Lv, M., Luo, B. H., Zhao, S. Z., Mo, Z. C., ve Xie, Y. J. (2021). The role of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathway in male reproduction. *Current Molecular Medicine*, 21(7), 539-548.
51. Wen, Q., Tang, E. I., Gao, Y., Jesus, T. T., Chu, D. S., Lee, W. M., Wong, C. K. C., Liu, Y. X., Xiao, X., Silvestrini, B., ve Cheng, C. Y. (2018). Signaling pathways regulating blood-tissue barriers - Lesson from the testis. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*, 1860(1), 141-153.
52. Moreira, B. P., Oliveira, P. F., ve Alves, M. G. (2019). Molecular Mechanisms Controlled by mTOR in Male Reproductive System. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7).
53. Meroni, S. B., Galardo, M. N., Rindone, G., Gorga, A., Riera, M. F., ve Cigorraga, S. B. (2019). Molecular Mechanisms and Signaling Pathways Involved in Sertoli Cell Proliferation. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 224.
54. Mok, K. W., Mruk, D. D., ve Cheng, C. Y. (2014). rpS6 regulates blood-testis barrier dynamics through Akt-mediated effects on MMP-9. *Journal of Cell Science*, 127(Pt 22), 4870-4882.
55. Mok, K. W., Mruk, D. D., Silvestrini, B., ve Cheng, C. Y. (2012). rpS6 Regulates blood-testis barrier dynamics by affecting F-actin organization and protein recruitment. *Endocrinology*, 153(10), 5036-5048.
56. Akar, F., Sumlu, E., Alçığır, M. E., Bostancı, A., ve Sadi, G. (2021). Potential mechanistic pathways underlying intestinal and hepatic effects of kefir in high-fructose-fed rats. *Food Research International*, 143, 110287.
57. Korkmaz, O. A., Sumlu, E., Koca, H. B., Pektas, M. B., Kocabas, A., Sadi, G., ve Akar, F. (2019). Effects of Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus Helveticus on Renal Insulin Signaling, Inflammatory Markers, and Glucose Transporters in High-Fructose-Fed Rats. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 55(5), 207.
58. Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P., Loria, C. M., ve Smith, S. C., Jr. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of

the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640-1645.

59. Reaven, G. M. (1988). Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607.
60. Taskinen, M. R., Packard, C. J., ve Borén, J. (2019). Dietary Fructose and the Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 11(9).
61. Alberti, K. G., ve Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539-553.
62. Balkau, B., ve Charles, M. A. (1999). Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetic Medicine*, 16(5), 442-443.
63. Cleeman, J., Grundy, S., Becker, D., ve Clark, L. (2001). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP III). *The Journal of the American Medical Association*, 285(19), 2486-2497.
64. Arslan, M., Atmaca, A., Ayvaz, G., Başkal, N., Beyhan, Z., Bolu, E., Can, S., Çorakçı, A., Dağdelen, S., ve Demirağ, N. G. (2009). Metabolik sendrom klavuzu. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği*.
65. Patel, B. M., ve Goyal, R. K. (2019). Liver and insulin resistance: New wine in old bottle!!! *European Journal of Pharmacology*, 862, 172657.
66. Branca, F., Nikogosian, H., ve Lobstein, T. (2007). *The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response: summary*: World Health Organization.
67. İnternet: World Health Organization. (2020). World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Web: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332070/9789240005105-eng.pdf> adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
68. Abarca-Gómez, L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., Adams, R. J., Aekplakorn, W., Afsana, K., ve Aguilar-Salinas, C. A. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis

of 2416 population-based measurement studies in 128· 9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, 390(10113), 2627-2642.

69. Hales, C. M., Carroll, M. D., Fryar, C. D., ve Ogden, C. L. (2017). Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2015-2016. *National Center for Health Statistics Data Brief*(288), 1-8.
70. Ogden, C. L., Carroll, M. D., Kit, B. K., ve Flegal, K. M. (2014). Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *The Journal of the American Medical Association*, 311(8), 806-814.
71. Satman, I., Yilmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tütüncü, Y., Sargin, M., Dinççag, N., Karsidag, K., Kalaça, S., Ozcan, C., ve King, H. (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25(9), 1551-1556.
72. Satman, I., Omer, B., Tutuncu, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinccag, N., Karsidag, K., Genc, S., Telci, A., Canbaz, B., Turker, F., Yilmaz, T., Cakir, B., ve Tuomilehto, J. (2013). Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European Journal of Epidemiology*, 28(2), 169-180.
73. İnternet: International Diabetes Federation. (2019). IDF diabetes atlas, 9th edition. Web: https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.pdf adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
74. Onat, A., Hergenç, G., Uyarel, H., Can, G., ve Ozhan, H. (2006). Prevalence, incidence, predictors and outcome of type 2 diabetes in Turkey. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 6(4), 314-321.
75. Ford, E. S., Giles, W. H., ve Dietz, W. H. (2002). Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of the American Medical Association*, 287(3), 356-359.
76. Aguilar, M., Bhuket, T., Torres, S., Liu, B., ve Wong, R. J. (2015). Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *The Journal of the American Medical Association*, 313(19), 1973-1974.
77. Kozan, O., Oguz, A., Abaci, A., Erol, C., Ongen, Z., Temizhan, A., ve Celik, S. (2007). Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(4), 548-553.

78. Han, T. S., ve Lean, M. E. (2016). A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Journal of the Royal Society of Medicine Cardiovascular Disease*, 5, 2048004016633371.
79. Tappy, L., ve Lê, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews*, 90(1), 23-46.
80. İnternet: World Health Organization. (2014). Global status report on noncommunicable diseases 2014. Web: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/9789241564854_en_g.pdf?sequence=1 adresinden 03.09.2021'de alınmıştır.
81. Lean, M. E., ve Te Morenga, L. (2016). Sugar and Type 2 diabetes. *British Medical Bulletin*, 120(1), 43-53.
82. Bahadoran, Z., Mirmiran, P., ve Azizi, F. (2015). Fast Food Pattern and Cardiometabolic Disorders: A Review of Current Studies. *Health Promotion Perspectives*, 5(4), 231-240.
83. Zhao, Y., Wang, L., Xue, H., Wang, H., ve Wang, Y. (2017). Fast food consumption and its associations with obesity and hypertension among children: results from the baseline data of the Childhood Obesity Study in China Mega-cities. *BioMed Central Public Health*, 17(1), 933.
84. Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Hosseini-Esfahani, F., ve Azizi, F. (2013). Fast food consumption and the risk of metabolic syndrome after 3-years of follow-up: Tehran Lipid and Glucose Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(12), 1303-1309.
85. Lee, J., Kim, Y., ve Jeon, J. Y. (2016). Association between physical activity and the prevalence of metabolic syndrome: from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2012. *Springerplus*, 5(1), 1870.
86. Liang, X., Zhang, P., Luo, S., Zhang, G., Tang, X., ve Liu, L. (2021). The association of quality of life and personality characteristics with adolescent metabolic syndrome: a cohort study. *Health and Quality of Life Outcomes*, 19(1), 160.
87. Berahman, H., Elmieh, A., ve Fadaei Chafy, M. R. (2021). The effect of water-based rhythmic exercise training on glucose homeostasis and thyroid hormones in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*.
88. Welsh, J. A., Sharma, A., Abramson, J. L., Vaccarino, V., Gillespie, C., ve Vos, M. B. (2010). Caloric sweetener consumption and dyslipidemia among

- US adults. *The Journal of the American Medical Association*, 303(15), 1490-1497.
89. Schulze, M. B., Manson, J. E., Ludwig, D. S., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Willett, W. C., ve Hu, F. B. (2004). Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *The Journal of the American Medical Association*, 292(8), 927-934.
 90. McKeown, N. M., Dashti, H. S., Ma, J., Haslam, D. E., Kiefe-de Jong, J. C., Smith, C. E., Tanaka, T., Graff, M., Lemaitre, R. N., Rybin, D., Sonestedt, E., Frazier-Wood, A. C., Mook-Kanamori, D. O., Li, Y., Wang, C. A., Leermakers, E. T. M., Mikkilä, V., Young, K. L., Mukamal, K. J., Cupples, L. A., Schulz, C. A., Chen, T. A., Li-Gao, R., Huang, T., Oddy, W. H., Raitakari, O., Rice, K., Meigs, J. B., Ericson, U., Steffen, L. M., Rosendaal, F. R., Hofman, A., Kähönen, M., Psaty, B. M., Brunkwall, L., Uitterlinden, A. G., Viikari, J., Siscovick, D. S., Seppälä, I., North, K. E., Mozaffarian, D., Dupuis, J., Orho-Melander, M., Rich, S. S., de Mutsert, R., Qi, L., Pennell, C. E., Franco, O. H., Lehtimäki, T., ve Herman, M. A. (2018). Sugar-sweetened beverage intake associations with fasting glucose and insulin concentrations are not modified by selected genetic variants in a ChREBP-FGF21 pathway: a meta-analysis. *Diabetologia*, 61(2), 317-330.
 91. Sigala, D., Hieronimus, B., Price, C., Lee, V., Nunez, M., Medici, V., Chaudhari, A. J., McGahan, J. P., Abdelhafez, Y., Keim, N. L., Goran, M. I., Pacini, G., Tura, A., Havel, P. J., ve Stanhope, K. L. (2020). 5-LB: Consuming High-Fructose Corn Syrup or Sucrose-Sweetened Beverages Increases Hepatic Lipid Content and Decreases Insulin Sensitivity in Young Adults. *Diabetes*, 69(Supplement 1), 5-LB.
 92. Matikainen, N., Söderlund, S., Björnson, E., Bogl, L. H., Pietiläinen, K. H., Hakkarainen, A., Lundbom, N., Eliasson, B., Räsänen, S. M., Rivellese, A., Patti, L., Prinster, A., Riccardi, G., Després, J. P., Alméras, N., Holst, J. J., Deacon, C. F., Borén, J., ve Taskinen, M. R. (2017). Fructose intervention for 12 weeks does not impair glycemic control or incretin hormone responses during oral glucose or mixed meal tests in obese men. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 27(6), 534-542.
 93. Chan, T. F., Lin, W. T., Chen, Y. L., Huang, H. L., Yang, W. Z., Lee, C. Y., Chen, M. H., Wang, T. N., Huang, M. C., Chiu, Y. W., Huang, C. C., Tsai, S., Lin, C. L., ve Lee, C. H. (2014). Elevated serum triglyceride and retinol-binding protein 4 levels associated with fructose-sweetened beverages in adolescents. *PloS One*, 9(1), e82004.
 94. Silbernagel, G., Machann, J., Unmuth, S., Schick, F., Stefan, N., Häring, H. U., ve Fritsche, A. (2011). Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial. *British Journal of Nutrition*, 106(1), 79-86.

95. Stanhope, K. L., Schwarz, J. M., Keim, N. L., Griffen, S. C., Bremer, A. A., Graham, J. L., Hatcher, B., Cox, C. L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J. P., Seibert, A., Krauss, R. M., Chiu, S., Schaefer, E. J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., Beysen, C., Hellerstein, M. K., Berglund, L., ve Havel, P. J. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(5), 1322-1334.
96. Di Luccia, B., Crescenzo, R., Mazzoli, A., Cigliano, L., Venditti, P., Walser, J. C., Widmer, A., Baccigalupi, L., Ricca, E., ve Iossa, S. (2015). Rescue of Fructose-Induced Metabolic Syndrome by Antibiotics or Faecal Transplantation in a Rat Model of Obesity. *PloS One*, 10(8), e0134893.
97. Mortera, R. R., Bains, Y., ve Gugliucci, A. (2019). Fructose at the crossroads of the metabolic syndrome and obesity epidemics. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)*, 24, 186-211.
98. Venkatesh, T., Suresh, P. S., ve Tsutsumi, R. (2014). New insights into the genetic basis of infertility. *The Application of Clinical Genetics*, 7, 235-243.
99. Muraleedharan, V., Marsh, H., Kapoor, D., Channer, K. S., ve Jones, T. H. (2013). Testosterone deficiency is associated with increased risk of mortality and testosterone replacement improves survival in men with type 2 diabetes. *European Journal of Endocrinology*, 169(6), 725-733.
100. Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., ve Stevens, G. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Medicine*, 9(12), e1001356.
101. Morrison, C. D., ve Brannigan, R. E. (2015). Metabolic syndrome and infertility in men. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 29(4), 507-515.
102. Rastrelli, G., Filippi, S., Sforza, A., Maggi, M., ve Corona, G. (2018). Metabolic Syndrome in Male Hypogonadism. *Frontiers of Hormone Research*, 49, 131-155.
103. Tsai, E. C., Matsumoto, A. M., Fujimoto, W. Y., ve Boyko, E. J. (2004). Association of bioavailable, free, and total testosterone with insulin resistance: influence of sex hormone-binding globulin and body fat. *Diabetes Care*, 27(4), 861-868.
104. Barkabi-Zanjani, S., Ghorbanzadeh, V., Aslani, M., Ghalibafsabbaghi, A., ve Chodari, L. (2020). Diabetes mellitus and the impairment of male

reproductive function: Possible signaling pathways. *Diabetes and Metabolic Syndrome*, 14(5), 1307-1314.

105. Salau, V. F., Erukainure, O. L., Olofinson, K. A., ve Islam, M. S. (2021). Vanillin exerts therapeutic effects against hyperglycemia-altered glucose metabolism and purinergic activities in testicular tissues of diabetic rats. *Reproductive Toxicology*, 102, 24-34.
106. Ahangarpour, A., Oroojan, A. A., Heidari, H., Ehsan, G., ve Rashidi Nooshabadi, M. R. (2014). Effects of Hydro-Alcoholic Extract of *Rhus coriaria* (Sumac) Seeds on Reproductive Complications of Nicotinamide-Streptozotocin Induced Type-2 Diabetes in Male Mice. *The World Journal of Men's Health*, 32(3), 151-158.
107. Bahmanzadeh, M., Goodarzi, M. T., Rezaei Farimani, A., Fathi, N., ve Alizadeh, Z. (2019). Resveratrol supplementation improves DNA integrity and sperm parameters in streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic rats. *Andrologia*, 51(8), e13313.
108. Rezaei, A. A., Salehi, I., Karimi, S. A., ve Rahnema, M. (2020). The effects of Commiphora mukul extract on spermatogenesis and testosterone levels in male diabetic rats. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 47(1), 34-41.
109. Crean, A. J., ve Senior, A. M. (2019). High-fat diets reduce male reproductive success in animal models: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*, 20(6), 921-933.
110. Morelli, A., Sarchielli, E., Comeglio, P., Filippi, S., Vignozzi, L., Marini, M., Rastrelli, G., Maneschi, E., Cellai, I., Persani, L., Adorini, L., Vannelli, G. B., ve Maggi, M. (2014). Metabolic syndrome induces inflammation and impairs gonadotropin-releasing hormone neurons in the preoptic area of the hypothalamus in rabbits. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 107-119.
111. Marchiani, S., Vignozzi, L., Filippi, S., Gurrieri, B., Comeglio, P., Morelli, A., Danza, G., Bartolucci, G., Maggi, M., ve Baldi, E. (2015). Metabolic syndrome-associated sperm alterations in an experimental rabbit model: relation with metabolic profile, testis and epididymis gene expression and effect of tamoxifen treatment. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 401, 12-24.
112. Fernandez, C. D., Bellentani, F. F., Fernandes, G. S., Perobelli, J. E., Favareto, A. P., Nascimento, A. F., Cicogna, A. C., ve Kempinas, W. D. (2011). Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9, 32.

113. Li, Y., Liu, L., Wang, B., Xiong, J., Li, Q., Wang, J., ve Chen, D. (2013). Impairment of reproductive function in a male rat model of non-alcoholic fatty liver disease and beneficial effect of N-3 fatty acid supplementation. *Toxicology Letters*, 222(2), 224-232.
114. Maneschi, E., Morelli, A., Filippi, S., Cellai, I., Comeglio, P., Mazzanti, B., Mello, T., Calcagno, A., Sarchielli, E., Vignozzi, L., Saad, F., Vettor, R., Vannelli, G. B., ve Maggi, M. (2012). Testosterone treatment improves metabolic syndrome-induced adipose tissue derangements. *The Journal of Endocrinology*, 215(3), 347-362.
115. Groti, K., Žuran, I., Antoniĉ, B., Foršnariĉ, L., ve Pfeifer, M. (2018). The impact of testosterone replacement therapy on glycemic control, vascular function, and components of the metabolic syndrome in obese hypogonadal men with type 2 diabetes. *The Aging Male*, 21(3), 158-169.
116. Yao, Q. M., Wang, B., An, X. F., Zhang, J. A., ve Ding, L. (2018). Testosterone level and risk of type 2 diabetes in men: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine Connections*, 7(1), 220-231.
117. Hackett, G. (2019). Metabolic Effects of Testosterone Therapy in Men with Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome. *Sexual Medicine Reviews*, 7(3), 476-490.
118. Elabbady, A., Hashad, M. M., Kotb, A. F., ve Ghanem, A. E. (2016). Studying the effect of type 2 diabetes mellitus on prostate-related parameters: A prospective single institutional study. *Prostate International*, 4(4), 156-159.
119. Yassin, A., Haider, A., Haider, K. S., Caliber, M., Doros, G., Saad, F., ve Garvey, W. T. (2019). Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism Prevents Progression From Prediabetes to Type 2 Diabetes: Eight-Year Data From a Registry Study. *Diabetes Care*, 42(6), 1104-1111.
120. Haider, K. S., Haider, A., Saad, F., Doros, G., Hanefeld, M., Dhindsa, S., Dandona, P., ve Traish, A. (2020). Remission of type 2 diabetes following long-term treatment with injectable testosterone undecanoate in patients with hypogonadism and type 2 diabetes: 11-year data from a real-world registry study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 22(11), 2055-2068.
121. Dhindsa, S., Ghanim, H., Batra, M., Kuhadiya, N. D., Abuaysheh, S., Sandhu, S., Green, K., Makdissi, A., Hejna, J., Chaudhuri, A., Punyanitya, M., ve Dandona, P. (2016). Insulin Resistance and Inflammation in Hypogonadotropic Hypogonadism and Their Reduction After Testosterone Replacement in Men With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 39(1), 82-91.

122. Sallmén, M., Sandler, D. P., Hoppin, J. A., Blair, A., ve Baird, D. D. (2006). Reduced Fertility Among Overweight and Obese Men. *Epidemiology*, 17(5), 520-523.
123. Chavarro, J. E., Toth, T. L., Wright, D. L., Meeker, J. D., ve Hauser, R. (2010). Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and Sterility*, 93(7), 2222-2231.
124. Keszthelyi, M., Gyarmathy, V. A., Kaposi, A., ve Kopa, Z. (2020). The potential role of central obesity in male infertility: body mass index versus waist to hip ratio as they relate to selected semen parameters. *BioMed Central Public Health*, 20(1), 307.
125. Tunc, O., Bakos, H. W., ve Tremellen, K. (2011). Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*, 43(2), 121-128.
126. Goodale, T., Sadhu, A., Petak, S., ve Robbins, R. (2017). Testosterone and the Heart. *Methodist Debakey Cardiovascular Journal*, 13(2), 68-72.
127. Haring, R., Völzke, H., Steveling, A., Krebs, A., Felix, S. B., Schöfl, C., Dörr, M., Nauck, M., ve Wallaschofski, H. (2010). Low serum testosterone levels are associated with increased risk of mortality in a population-based cohort of men aged 20-79. *European Heart Journal*, 31(12), 1494-1501.
128. Bianchi, V. E. (2019). The Anti-Inflammatory Effects of Testosterone. *Journal of the Endocrine Society*, 3(1), 91-107.
129. Malkin, C. J., Pugh, P. J., Jones, R. D., Kapoor, D., Channer, K. S., ve Jones, T. H. (2004). The effect of testosterone replacement on endogenous inflammatory cytokines and lipid profiles in hypogonadal men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(7), 3313-3318.
130. Hoyos, C. M., Yee, B. J., Phillips, C. L., Machan, E. A., Grunstein, R. R., ve Liu, P. Y. (2012). Body compositional and cardiometabolic effects of testosterone therapy in obese men with severe obstructive sleep apnoea: a randomised placebo-controlled trial. *European Journal of Endocrinology*, 167(4), 531-541.
131. Kupelian, V., Page, S. T., Araujo, A. B., Travison, T. G., Bremner, W. J., ve McKinlay, J. B. (2006). Low sex hormone-binding globulin, total testosterone, and symptomatic androgen deficiency are associated with development of the metabolic syndrome in nonobese men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91(3), 843-850.
132. Laaksonen, D. E., Niskanen, L., Punnonen, K., Nyyssönen, K., Tuomainen, T. P., Valkonen, V. P., Salonen, R., ve Salonen, J. T. (2004). Testosterone

and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care*, 27(5), 1036-1041.

133. Yeap, B. B., Chubb, S. A., Hyde, Z., Jamrozik, K., Hankey, G. J., Flicker, L., ve Norman, P. E. (2009). Lower serum testosterone is independently associated with insulin resistance in non-diabetic older men: the Health In Men Study. *European Journal of Endocrinology*, 161(4), 591-598.
134. Laaksonen, D. E., Niskanen, L., Punnonen, K., Nyyssönen, K., Tuomainen, T. P., Salonen, R., Rauramaa, R., ve Salonen, J. T. (2003). Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study. *European Journal of Endocrinology*, 149(6), 601-608.
135. Kalinchenko, S. Y., Tishova, Y. A., Mskhalaya, G. J., Gooren, L. J., Giltay, E. J., ve Saad, F. (2010). Effects of testosterone supplementation on markers of the metabolic syndrome and inflammation in hypogonadal men with the metabolic syndrome: the double-blinded placebo-controlled Moscow study. *Clinical Endocrinology*, 73(5), 602-612.
136. Cabrera, O., Berman, D. M., Kenyon, N. S., Ricordi, C., Berggren, P. O., ve Caicedo, A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(7), 2334-2339.
137. Rorsman, P., ve Braun, M. (2013). Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. *Annual Review of Physiology*, 75, 155-179.
138. Hutton, J. C. (1994). Insulin secretory granule biogenesis and the proinsulin-processing endopeptidases. *Diabetologia*, 37 Suppl 2, S48-56.
139. Gilon, P., ve Henquin, J. C. (2001). Mechanisms and physiological significance of the cholinergic control of pancreatic beta-cell function. *Endocrine Reviews*, 22(5), 565-604.
140. Rorsman, P., Bokvist, K., Ammälä, C., Arkhammar, P., Berggren, P. O., Larsson, O., ve Wåhlander, K. (1991). Activation by adrenaline of a low-conductance G protein-dependent K⁺ channel in mouse pancreatic B cells. *Nature*, 349(6304), 77-79.
141. Gürlek, A., Kayaalp, S.O. (2005). İnsülin, Oral Antidiyabetik İlaçlar ve Glukagon Trans.). In S. O. Kayaalp (Ed.), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (11 ed., Vol. pp. 1039-1078). Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık.
142. Tirone, T. A., Norman, M. A., Moldovan, S., DeMayo, F. J., Wang, X. P., ve Brunicardi, F. C. (2003). Pancreatic somatostatin inhibits insulin secretion via SSTR-5 in the isolated perfused mouse pancreas model. *Pancreas*, 26(3), e67-73.

143. Mayer, B. J., ve Baltimore, D. (1993). Signalling through SH2 and SH3 domains. *Trends in Cell Biology*, 3(1), 8-13.
144. Shulman, G. I. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(2), 171-176.
145. Fayard, E., Xue, G., Parcellier, A., Bozulic, L., ve Hemmings, B. A. (2010). Protein kinase B (PKB/Akt), a key mediator of the PI3K signaling pathway. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 346, 31-56.
146. Khorami, S. A. H., Movahedi, A., Huzwah, K., ve Sokhini, A. (2015). PI3K/AKT pathway in modulating glucose homeostasis and its alteration in diabetes. *Annals of Medical and Biomedical Sciences*, 1(2), 46-55.
147. Petersen, M. C., ve Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133-2223.
148. Madonna, R., Pieragostino, D., Rossi, C., Confalone, P., Cicalini, I., Minnucci, I., Zucchelli, M., Del Boccio, P., ve De Caterina, R. (2020). Simulated hyperglycemia impairs insulin signaling in endothelial cells through a hyperosmolar mechanism. *Vascular Pharmacology*, 130, 106678.
149. Pasarín, M., La Mura, V., Gracia-Sancho, J., García-Calderó, H., Rodríguez-Vilarrupla, A., García-Pagán, J. C., Bosch, J., ve Abraldes, J. G. (2012). Sinusoidal endothelial dysfunction precedes inflammation and fibrosis in a model of NAFLD. *PloS One*, 7(4), e32785.
150. Taguchi, K., Matsumoto, T., Kamata, K., ve Kobayashi, T. (2012). G protein-coupled receptor kinase 2, with β -arrestin 2, impairs insulin-induced Akt/endothelial nitric oxide synthase signaling in ob/ob mouse aorta. *Diabetes*, 61(8), 1978-1985.
151. Kokk, K., Veräjänkorka, E., Laato, M., Wu, X. K., Tapfer, H., ve Pöllänen, P. (2005). Expression of insulin receptor substrates 1-3, glucose transporters GLUT-1-4, signal regulatory protein 1 α , phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B at the protein level in the human testis. *Anatomical Science International*, 80(2), 91-96.
152. Kokk, K., Veräjänkorka, E., Wu, X. K., Tapfer, H., Pöldoja, E., Simovart, H. E., ve Pöllänen, P. (2007). Expression of insulin signaling transmitters and glucose transporters at the protein level in the rat testis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1095, 262-273.
153. Ibberson, M., Riederer, B. M., Uldry, M., Guhl, B., Roth, J., ve Thorens, B. (2002). Immunolocalization of GLUTX1 in the testis and to specific brain areas and vasopressin-containing neurons. *Endocrinology*, 143(1), 276-284.

154. Catalano-Iniesta, L., Sánchez-Robledo, V., Iglesias-Osma, M. C., García-Barrado, M. J., Carretero-Hernández, M., Blanco, E. J., Vicente-García, T., Burks, D. J., ve Carretero, J. (2019). Sequential testicular atrophy involves changes in cellular proliferation and apoptosis associated with variations in aromatase P450 expression levels in Irs-2-deficient mice. *Journal of Anatomy*, 234(2), 227-243.
155. Castilla-Cortázar, I., Gago, A., Muñoz, Ú., Ávila-Gallego, E., Guerra-Menéndez, L., Sádaba, M. C., García-Magariño, M., Olleros Santos-Ruiz, M., Aguirre, G. A., ve Puche, J. E. (2015). Mechanisms Underlying Testicular Damage and Dysfunction in Mice With Partial IGF-1 Deficiency and the Effectiveness of IGF-1 Replacement Therapy. *Urology*, 86(6), 1241.e1241-1249.
156. D'Cruz, S. C., Jubendradass, R., Jayakanthan, M., Rani, S. J., ve Mathur, P. P. (2012). Bisphenol A impairs insulin signaling and glucose homeostasis and decreases steroidogenesis in rat testis: an in vivo and in silico study. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4), 1124-1133.
157. D'Cruz, S. C., Jubendradass, R., ve Mathur, P. P. (2012). Bisphenol A induces oxidative stress and decreases levels of insulin receptor substrate 2 and glucose transporter 8 in rat testis. *Reproductive Sciences*, 19(2), 163-172.
158. Bashir, N., Shagirtha, K., Manoharan, V., ve Miltonprabu, S. (2019). The molecular and biochemical insight view of grape seed proanthocyanidins in ameliorating cadmium-induced testes-toxicity in rat model: implication of PI3K/Akt/Nrf-2 signaling. *Bioscience Reports*, 39(1).
159. Yu, H. M., Wu, Y., Ju, P., Wang, B. H., Yang, X. D., Wang, H. M., ve Xu, L. C. (2014). eNOS-JNK1-AR signaling pathway mediates deltamethrin-induced germ cells apoptosis in testes of adult rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 733-741.
160. Poasakate, A., Maneesai, P., Chiangsaen, P., Bunbupha, S., Settheetham-Ishida, W., ve Pakdeechote, P. (2021). Cratoxylum formosum dyer extract alleviates testicular damage in hypertensive rats. *Andrologia*, 53(2), e13917.
161. Abdelzaher, W. Y., Khalaf, H. M., El-Hussieny, M., Bayoumi, A., Shehata, S., ve Refaie, M. (2020). Role of nitric oxide donor in methotrexate-induced testicular injury via modulation of pro-inflammatory mediators, eNOS and P-glycoprotein. *Human and Experimental Toxicology*, 39(12), 1700-1709.
162. Foster, K. G., ve Fingar, D. C. (2010). Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(19), 14071-14077.

163. Ma, J., Meng, Y., Kwiatkowski, D. J., Chen, X., Peng, H., Sun, Q., Zha, X., Wang, F., Wang, Y., Jing, Y., Zhang, S., Chen, R., Wang, L., Wu, E., Cai, G., Malinowska-Kolodziej, I., Liao, Q., Liu, Y., Zhao, Y., Sun, Q., Xu, K., Dai, J., Han, J., Wu, L., Zhao, R. C., Shen, H., ve Zhang, H. (2010). Mammalian target of rapamycin regulates murine and human cell differentiation through STAT3/p63/Jagged/Notch cascade. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(1), 103-114.
164. Xu, H., Shen, L., Chen, X., Ding, Y., He, J., Zhu, J., Wang, Y., ve Liu, X. (2016). mTOR/P70S6K promotes spermatogonia proliferation and spermatogenesis in Sprague Dawley rats. *Reproductive Biomedicine Online*, 32(2), 207-217.
165. Rodgers, J. T., Lerin, C., Haas, W., Gygi, S. P., Spiegelman, B. M., ve Puigserver, P. (2005). Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature*, 434(7029), 113-118.
166. Bordone, L., Motta, M. C., Picard, F., Robinson, A., Jhala, U. S., Apfeld, J., McDonagh, T., Lemieux, M., McBurney, M., Szilvasi, A., Easlon, E. J., Lin, S. J., ve Guarente, L. (2006). Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS Biology*, 4(2), e31.
167. Rato, L., Alves, M. G., Silva, B. M., Sousa, M., ve Oliveira, P. F. (2016). Sirtuins: Novel Players in Male Reproductive Health. *Current Medicinal Chemistry*, 23(11), 1084-1099.
168. Tatone, C., Di Emidio, G., Barbonetti, A., Carta, G., Luciano, A. M., Falone, S., ve Amicarelli, F. (2018). Sirtuins in gamete biology and reproductive physiology: emerging roles and therapeutic potential in female and male infertility. *Human Reproduction Update*, 24(3), 267-289.
169. Vachharajani, V. T., Liu, T., Wang, X., Hoth, J. J., Yoza, B. K., ve McCall, C. E. (2016). Sirtuins Link Inflammation and Metabolism. *Journal of Immunology Research*, 2016, 8167273.
170. McBurney, M. W., Yang, X., Jardine, K., Hixon, M., Boekelheide, K., Webb, J. R., Lansdorp, P. M., ve Lemieux, M. (2003). The mammalian SIR2alpha protein has a role in embryogenesis and gametogenesis. *Molecular and Cellular Biology*, 23(1), 38-54.
171. Seifert, E. L., Caron, A. Z., Morin, K., Coulombe, J., He, X. H., Jardine, K., Dewar-Darch, D., Boekelheide, K., Harper, M. E., ve McBurney, M. W. (2012). SirT1 catalytic activity is required for male fertility and metabolic homeostasis in mice. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 26(2), 555-566.

172. Bell, E. L., Nagamori, I., Williams, E. O., Del Rosario, A. M., Bryson, B. D., Watson, N., White, F. M., Sassone-Corsi, P., ve Guarente, L. (2014). SirT1 is required in the male germ cell for differentiation and fecundity in mice. *Development*, 141(18), 3495-3504.
173. Schiano, C., Grimaldi, V., Scognamiglio, M., Costa, D., Soricelli, A., Nicoletti, G. F., ve Napoli, C. (2021). Soft drinks and sweeteners intake: possible contribution to the development of metabolic syndrome and cardiovascular diseases. Beneficial or detrimental action of alternative sweeteners? *Food Research International*, 142, 110220.
174. Lambertz, J., Weiskirchen, S., Landert, S., ve Weiskirchen, R. (2017). Fructose: a dietary sugar in crosstalk with microbiota contributing to the development and progression of non-alcoholic liver disease. *Frontiers in Immunology*, 8, 1159.
175. Powell, E. S., Smith-Taillie, L. P., ve Popkin, B. M. (2016). Added sugars intake across the distribution of US children and adult consumers: 1977-2012. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 116(10), 1543-1550. e1541.
176. Marriott, B. P., Olsho, L., Hadden, L., ve Connor, P. (2010). Intake of added sugars and selected nutrients in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(3), 228-258.
177. Bray, G. A. (2013). Energy and fructose from beverages sweetened with sugar or high-fructose corn syrup pose a health risk for some people. *Advances in Nutrition*, 4(2), 220-225.
178. Marriott, B. P., Cole, N., ve Lee, E. (2009). National estimates of dietary fructose intake increased from 1977 to 2004 in the United States. *Journal of Nutrition*, 139(6), 1228s-1235s.
179. Goran, M. I., Ulijaszek, S. J., ve Ventura, E. E. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: a global perspective. *Global Public Health*, 8(1), 55-64.
180. Hanover, L. M., ve White, J. S. (1993). Manufacturing, composition, and applications of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(5), 724S-732S.
181. White, J. S., Hobbs, L. J., ve Fernandez, S. (2015). Fructose content and composition of commercial HFCS-sweetened carbonated beverages. *International Journal of Obesity (2005)*, 39(1), 176-182.

182. Das, U. N. (2015). Sucrose, fructose, glucose, and their link to metabolic syndrome and cancer. *Nutrition*, 31(1), 249-257.
183. Patel, C., Douard, V., Yu, S., Tharabenjasin, P., Gao, N., ve Ferraris, R. P. (2015). Fructose-induced increases in expression of intestinal fructolytic and gluconeogenic genes are regulated by GLUT5 and KHK. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 309(5), R499-509.
184. Zhang, D. M., Jiao, R. Q., ve Kong, L. D. (2017). High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*, 9(4).
185. Lee, H. J., ve Cha, J. Y. (2018). Recent insights into the role of ChREBP in intestinal fructose absorption and metabolism. *Biochemistry and Molecular Biology Reports*, 51(9), 429-436.
186. Jang, C., Hui, S., Lu, W., Cowan, A. J., Morscher, R. J., Lee, G., Liu, W., Tesz, G. J., Birnbaum, M. J., ve Rabinowitz, J. D. (2018). The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. *Cell Metabolism*, 27(2), 351-361.e353.
187. Tran, L. T., Yuen, V. G., ve McNeill, J. H. (2009). The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 332(1-2), 145-159.
188. Bray, G. A., Nielsen, S. J., ve Popkin, B. M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), 537-543.
189. Johnson, R. J., Segal, M. S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D. I., Kang, D. H., Gersch, M. S., Benner, S., ve Sánchez-Lozada, L. G. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86(4), 899-906.
190. Shoham, D. A., Durazo-Arvizu, R., Kramer, H., Luke, A., Vupputuri, S., Kshirsagar, A., ve Cooper, R. S. (2008). Sugary soda consumption and albuminuria: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2004. *PloS One*, 3(10), e3431.
191. Elliott, S. S., Keim, N. L., Stern, J. S., Teff, K., ve Havel, P. J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(5), 911-922.
192. Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T. R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., Otto, B., Nawrocki, A. R., Scherer, P. E., Spranger, J.,

- Ristow, M., Joost, H. G., Havel, P. J., ve Tschöp, M. H. (2005). Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obesity Research*, 13(7), 1146-1156.
193. Lindqvist, A., Baelemans, A., ve Erlanson-Albertsson, C. (2008). Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regulatory Peptides*, 150(1-3), 26-32.
 194. Bantle, J. P., Raatz, S. K., Thomas, W., ve Georgopoulos, A. (2000). Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1128-1134.
 195. Teff, K. L., Grudziak, J., Townsend, R. R., Dunn, T. N., Grant, R. W., Adams, S. H., Keim, N. L., Cummings, B. P., Stanhope, K. L., ve Havel, P. J. (2009). Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(5), 1562-1569.
 196. Chong, M. F., Fielding, B. A., ve Frayn, K. N. (2007). Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(6), 1511-1520.
 197. Cox, C. L., Stanhope, K. L., Schwarz, J. M., Graham, J. L., Hatcher, B., Griffen, S. C., Bremer, A. A., Berglund, L., McGahan, J. P., Havel, P. J., ve Keim, N. L. (2012). Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks reduces net fat oxidation and energy expenditure in overweight/obese men and women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(2), 201-208.
 198. Maersk, M., Belza, A., Stødkilde-Jørgensen, H., Ringgaard, S., Chabanova, E., Thomsen, H., Pedersen, S. B., Astrup, A., ve Richelsen, B. (2012). Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(2), 283-289.
 199. Geidl-Flueck, B., Hochuli, M., Németh, Á., Eberl, A., Derron, N., Köfeler, H. C., Tappy, L., Berneis, K., Spinaz, G. A., ve Gerber, P. A. (2021). Fructose- and sucrose- but not glucose-sweetened beverages promote hepatic de novo lipogenesis: A randomized controlled trial. *Journal of Hepatology*, 75(1), 46-54.
 200. Himsworth, H. P. (1936). Diabetes mellitus. Its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. *Lancet*, 230, 127-130.

201. Jornayvaz, F. R., ve Shulman, G. I. (2012). Diacylglycerol activation of protein kinase C ϵ and hepatic insulin resistance. *Cell Metabolism*, 15(5), 574-584.
202. Samuel, V. T., Liu, Z. X., Qu, X., Elder, B. D., Bilz, S., Befroy, D., Romanelli, A. J., ve Shulman, G. I. (2004). Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biological Chemistry*, 279(31), 32345-32353.
203. Zheng, C., Khoo, C., Furtado, J., ve Sacks, F. M. (2010). Apolipoprotein C-III and the metabolic basis for hypertriglyceridemia and the dense low-density lipoprotein phenotype. *Circulation*, 121(15), 1722-1734.
204. Krssak, M., Falk Petersen, K., Dresner, A., DiPietro, L., Vogel, S. M., Rothman, D. L., Roden, M., ve Shulman, G. I. (1999). Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia*, 42(1), 113-116.
205. Hwang, I. S., Ho, H., Hoffman, B. B., ve Reaven, G. M. (1987). Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, 10(5), 512-516.
206. Hu, Y., Hou, Z., Yi, R., Wang, Z., Sun, P., Li, G., Zhao, X., ve Wang, Q. (2017). Tartary buckwheat flavonoids ameliorate high fructose-induced insulin resistance and oxidative stress associated with the insulin signaling and Nrf2/HO-1 pathways in mice. *Food and Function*, 8(8), 2803-2816.
207. Derdak, Z., Lang, C. H., Villegas, K. A., Tong, M., Mark, N. M., de la Monte, S. M., ve Wands, J. R. (2011). Activation of p53 enhances apoptosis and insulin resistance in a rat model of alcoholic liver disease. *Journal of Hepatology*, 54(1), 164-172.
208. Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektaş, M. B., Yildirim, O. G., Menevse, A., ve Akar, F. (2015). High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: improving effect of resveratrol. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 895-904.
209. Sumlu, E., Bostancı, A., Sadi, G., Alçıgır, M. E., ve Akar, F. (2020). *Lactobacillus plantarum* improves lipogenesis and IRS-1/AKT/eNOS signalling pathway in the liver of high-fructose-fed rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-9.
210. Zhao, C. X., Xu, X., Cui, Y., Wang, P., Wei, X., Yang, S., Edin, M. L., Zeldin, D. C., ve Wang, D. W. (2009). Increased endothelial nitric-oxide synthase expression reduces hypertension and hyperinsulinemia in fructose-treated rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 328(2), 610-620.

211. Romić, S., Tepavčević, S., Žakula, Z., Milosavljević, T., Kostić, M., Petković, M., ve Korićanac, G. (2014). Gender differences in the expression and cellular localization of lipin 1 in the hearts of fructose-fed rats. *Lipids*, 49(7), 655-663.
212. Shawky, N. M., Shehatou, G. S., Abdel Rahim, M., Suddek, G. M., ve Gameil, N. M. (2014). Levocetirizine ameliorates high fructose diet-induced insulin resistance, vascular dysfunction and hepatic steatosis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 740, 353-363.
213. Akar, F., Uludag, O., Aydin, A., Aytekin, Y. A., Elbeg, S., Tuzcu, M., ve Sahin, K. (2012). High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 2135-2141.
214. Babacanoglu, C., Yildirim, N., Sadi, G., Pektas, M. B., ve Akar, F. (2013). Resveratrol prevents high-fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 160-167.
215. Pektas, M. B., Sadi, G., ve Akar, F. (2015). Long-Term Dietary Fructose Causes Gender-Different Metabolic and Vascular Dysfunction in Rats: Modulatory Effects of Resveratrol. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37(4), 1407-1420.
216. Lu, X. L., Zhao, C. H., Yao, X. L., ve Zhang, H. (2017). Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/AKT signaling pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 85, 658-671.
217. Zhai, X., Ren, D., Luo, Y., Hu, Y., ve Yang, X. (2017). Chemical characteristics of an Ilex Kuding tea polysaccharide and its protective effects against high fructose-induced liver injury and vascular endothelial dysfunction in mice. *Food and Function*, 8(7), 2536-2547.
218. Park, J. H., Kho, M. C., Kim, H. Y., Ahn, Y. M., Lee, Y. J., Kang, D. G., ve Lee, H. S. (2015). Blackcurrant Suppresses Metabolic Syndrome Induced by High-Fructose Diet in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 385976.
219. Maithilikarpagaselvi, N., Sridhar, M. G., Swaminathan, R. P., ve Zachariah, B. (2016). Curcumin prevents inflammatory response, oxidative stress and insulin resistance in high fructose fed male Wistar rats: Potential role of serine kinases. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 187-194.
220. Djordjevic, A., Bursać, B., Veličković, N., Vasiljević, A., ve Matić, G. (2015). The impact of different fructose loads on insulin sensitivity, inflammation,

and PSA-NCAM-mediated plasticity in the hippocampus of fructose-fed male rats. *Nutritional Neuroscience*, 18(2), 66-75.

221. Draznin, B. (2006). Molecular mechanisms of insulin resistance: serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85alpha: the two sides of a coin. *Diabetes*, 55(8), 2392-2397.
222. Liu, W. C., Wu, C. W., Tain, Y. L., Fu, M. H., Hung, C. Y., Chen, I. C., Chen, L. W., ve Wu, K. L. H. (2018). Oral pioglitazone ameliorates fructose-induced peripheral insulin resistance and hippocampal gliosis but not restores inhibited hippocampal adult neurogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1864(1), 274-285.
223. Carrier, A. (2017). Metabolic Syndrome and Oxidative Stress: A Complex Relationship. *Antioxidants and Redox Signaling*, 26(9), 429-431.
224. Kelley, G. L., Allan, G., ve Azhar, S. (2004). High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*, 145(2), 548-555.
225. Garrido, C., Galluzzi, L., Brunet, M., Puig, P. E., Didelot, C., ve Kroemer, G. (2006). Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death and Differentiation*, 13(9), 1423-1433.
226. Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., ve Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews: Immunology*, 11(2), 85-97.
227. Minamino, T., Orimo, M., Shimizu, I., Kunieda, T., Yokoyama, M., Ito, T., Nojima, A., Nabetani, A., Oike, Y., Matsubara, H., Ishikawa, F., ve Komuro, I. (2009). A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nature Medicine*, 15(9), 1082-1087.
228. Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., ve Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114(12), 1752-1761.
229. Klaikaw, N., Wongphoom, J., Werawatganon, D., Chayanupatkul, M., ve Siriviriyakul, P. (2020). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of aloe vera in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *World Journal of Hepatology*, 12(7), 363-377.
230. Sahu, P., Mohan, K. V., Aggarwal, S., Arindkar, S., Mahesh Kumar, J., Kumar Upadhyay, P., Ramakrishna, G., ve Nagarajan, P. (2021). Apoptosis-inducing factor deficient mice fail to develop hepatic steatosis

under high fat high fructose diet or bile duct ligation. *Cell Biochemistry and Function*, 39(2), 296-307.

231. Attia, R. T., Abdel-Mottaleb, Y., Abdallah, D. M., El-Abhar, H. S., ve El-Maraghy, N. N. (2019). Raspberry ketone and Garcinia Cambogia rebalanced disrupted insulin resistance and leptin signaling in rats fed high fat fructose diet. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110, 500-509.
232. Thongnak, L., Chatsudthipong, V., Kongkaew, A., ve Lungkaphin, A. (2020). Effects of dapagliflozin and statins attenuate renal injury and liver steatosis in high-fat/high-fructose diet-induced insulin resistant rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 396, 114997.
233. Maiztegui, B., Borelli, M. I., Madrid, V. G., Del Zotto, H., Raschia, M. A., Francini, F., Massa, M. L., Flores, L. E., Rebolledo, O. R., ve Gagliardino, J. J. (2011). Sitagliptin prevents the development of metabolic and hormonal disturbances, increased β -cell apoptosis and liver steatosis induced by a fructose-rich diet in normal rats. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 120(2), 73-80.
234. Balakumar, M., Raji, L., Prabhu, D., Sathishkumar, C., Prabu, P., Mohan, V., ve Balasubramanyam, M. (2016). High-fructose diet is as detrimental as high-fat diet in the induction of insulin resistance and diabetes mediated by hepatic/pancreatic endoplasmic reticulum (ER) stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 423(1-2), 93-104.
235. Hu, Q. H., Zhang, X., Pan, Y., Li, Y. C., ve Kong, L. D. (2012). Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation in fructose-fed rats. *Biochemical Pharmacology*, 84(1), 113-125.
236. Choi, Y., Abdelmegeed, M. A., ve Song, B. J. (2017). Diet high in fructose promotes liver steatosis and hepatocyte apoptosis in C57BL/6J female mice: Role of disturbed lipid homeostasis and increased oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 103, 111-121.
237. Zhou, G. Y., Yi, Y. X., Jin, L. X., Lin, W., Fang, P. P., Lin, X. Z., Zheng, Y., ve Pan, C. W. (2016). The protective effect of juglanin on fructose-induced hepatitis by inhibiting inflammation and apoptosis through TLR4 and JAK2/STAT3 signaling pathways in fructose-fed rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 81, 318-328.
238. Song, L., Chen, T. Y., Zhao, X. J., Xu, Q., Jiao, R. Q., Li, J. M., ve Kong, L. D. (2019). Pterostilbene prevents hepatocyte epithelial-mesenchymal transition in fructose-induced liver fibrosis through suppressing miR-34a/Sirt1/p53 and TGF- β 1/Smads signalling. *British Journal of Pharmacology*, 176(11), 1619-1634.

239. Sanghavi, M., Vajir, M., Kumar, S., ve Tikoo, K. (2015). NFAT inhibitor tributylhexadecylphosphoniumbromide, ameliorates high fructose induced insulin resistance and nephropathy. *Chemico-Biological Interactions*, 240, 268-277.
240. Wellen, K. E., ve Hotamisligil, G. S. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(5), 1111-1119.
241. Castro, M. C., Massa, M. L., Arbeláez, L. G., Schinella, G., Gagliardino, J. J., ve Francini, F. (2015). Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. *Life Sciences*, 137, 1-6.
242. Downing, L. E., Heidker, R. M., Caiozzi, G. C., Wong, B. S., Rodriguez, K., Del Rey, F., ve Ricketts, M. L. (2015). A Grape Seed Procyanidin Extract Ameliorates Fructose-Induced Hypertriglyceridemia in Rats via Enhanced Fecal Bile Acid and Cholesterol Excretion and Inhibition of Hepatic Lipogenesis. *PloS One*, 10(10), e0140267.
243. Demircan, N., Gurel, A., Armutcu, F., Unalacak, M., Aktunc, E., ve Atmaca, H. (2008). The evaluation of serum cystatin C, malondialdehyde, and total antioxidant status in patients with metabolic syndrome. *Medical Science Monitor*, 14(2), Cr97-101.
244. Libby, P., Ridker, P. M., ve Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105(9), 1135-1143.
245. Grattagliano, I., Palmieri, V. O., Portincasa, P., Moschetta, A., ve Palasciano, G. (2008). Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(8), 491-504.
246. Andreassen, A. S., Kelly, M., Berg, R. M., Møller, K., ve Pedersen, B. K. (2011). Type 2 diabetes is associated with altered NF- κ B DNA binding activity, JNK phosphorylation, and AMPK phosphorylation in skeletal muscle after LPS. *PloS One*, 6(9), e23999.
247. Donath, M. Y., ve Shoelson, S. E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), 98-107.
248. Rabkin, S. W. (2009). The role of interleukin 18 in the pathogenesis of hypertension-induced vascular disease. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 6(3), 192-199.
249. Hadad, N., Burgazliev, O., Elgazar-Carmon, V., Solomonov, Y., Wueest, S., Item, F., Konrad, D., Rudich, A., ve Levy, R. (2013). Induction of cytosolic phospholipase $\alpha 2$ is required for adipose neutrophil infiltration and hepatic

- insulin resistance early in the course of high-fat feeding. *Diabetes*, 62(9), 3053-3063.
250. Hellmann, J., Zhang, M. J., Tang, Y., Rane, M., Bhatnagar, A., ve Spite, M. (2013). Increased saturated fatty acids in obesity alter resolution of inflammation in part by stimulating prostaglandin production. *The Journal of Immunology*, 191(3), 1383-1392.
 251. Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.
 252. Horrillo, R., González-Pérez, A., Martínez-Clemente, M., López-Parra, M., Ferré, N., Titos, E., Morán-Salvador, E., Deulofeu, R., Arroyo, V., ve Clària, J. (2010). 5-lipoxygenase activating protein signals adipose tissue inflammation and lipid dysfunction in experimental obesity. *The Journal of Immunology*, 184(7), 3978-3987.
 253. Dhingra, S., Sharma, A. K., Arora, R. C., Slezak, J., ve Singal, P. K. (2009). IL-10 attenuates TNF-alpha-induced NF kappaB pathway activation and cardiomyocyte apoptosis. *Cardiovascular Research*, 82(1), 59-66.
 254. Tedgui, A., ve Mallat, Z. (2006). Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiological Reviews*, 86(2), 515-581.
 255. Ooi, E. M., Barrett, P. H., Chan, D. C., ve Watts, G. F. (2008). Apolipoprotein C-III: understanding an emerging cardiovascular risk factor. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 114(10), 611-624.
 256. Kawakami, A., Osaka, M., Aikawa, M., Uematsu, S., Akira, S., Libby, P., Shimokado, K., Sacks, F. M., ve Yoshida, M. (2008). Toll-like receptor 2 mediates apolipoprotein CIII-induced monocyte activation. *Circulation Research*, 103(12), 1402-1409.
 257. Roglans, N., Vilà, L., Farré, M., Alegret, M., Sánchez, R. M., Vázquez-Carrera, M., ve Laguna, J. C. (2007). Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology*, 45(3), 778-788.
 258. Pai, S. A., Munshi, R. P., Panchal, F. H., Gaur, I. S., Mestry, S. N., Gursahani, M. S., ve Juvekar, A. R. (2019). Plumbagin reduces obesity and nonalcoholic fatty liver disease induced by fructose in rats through regulation of lipid metabolism, inflammation and oxidative stress. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 111, 686-694.
 259. Mattioli, L. F., Thomas, J. H., Holloway, N. B., Schropp, K. P., ve Wood, J. G. (2011). Effects of intragastric fructose and dextrose on mesenteric

- microvascular inflammation and postprandial hyperemia in the rat. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 35(2), 223-228.
260. Esposito, K., Nappo, F., Marfella, R., Giugliano, G., Giugliano, F., Ciotola, M., Quagliaro, L., Ceriello, A., ve Giugliano, D. (2002). Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*, 106(16), 2067-2072.
 261. Sørensen, L. B., Raben, A., Stender, S., ve Astrup, A. (2005). Effect of sucrose on inflammatory markers in overweight humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), 421-427.
 262. Choi, H. K., ve Curhan, G. (2008). Soft drinks, fructose consumption, and the risk of gout in men: prospective cohort study. *The British Medical Journal (Clinical research ed.)*, 336(7639), 309-312.
 263. Choi, H. K., Willett, W., ve Curhan, G. (2010). Fructose-rich beverages and risk of gout in women. *The Journal of the American Medical Association*, 304(20), 2270-2278.
 264. Aeberli, I., Gerber, P. A., Hochuli, M., Kohler, S., Haile, S. R., Gouni-Berthold, I., Berthold, H. K., Spinass, G. A., ve Berneis, K. (2011). Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94(2), 479-485.
 265. Lee, J. Y., Dada, R., Sabanegh, E., Carpi, A., ve Agarwal, A. (2011). Role of genetics in azoospermia. *Urology*, 77(3), 598-601.
 266. Asero, P., Calogero, A. E., Condorelli, R. A., Mongioi, L., Vicari, E., Lanzafame, F., Crisci, R., ve La Vignera, S. (2014). Relevance of genetic investigation in male infertility. *Journal of Endocrinological Investigation*, 37(5), 415-427.
 267. Xiao, X., Cheng, C. Y., ve Mruk, D. D. (2012). Intercellular adhesion molecule-1 is a regulator of blood-testis barrier function. *Journal of Cell Science*, 125(Pt 23), 5677-5689.
 268. Welsh, M., Saunders, P. T., Atanassova, N., Sharpe, R. M., ve Smith, L. B. (2009). Androgen action via testicular peritubular myoid cells is essential for male fertility. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 23(12), 4218-4230.
 269. Martini, F., Ober, W. C., Nath, J. L., Bartholomew, E. F., ve Petti, K. (2011). *Visual anatomy and physiology*. Benjamin Cummings.

270. Erukainure, O. L., Reddy, R., ve Islam, M. S. (2019). Raffia palm (*Raphia hookeri*) wine extenuates redox imbalance and modulates activities of glycolytic and cholinergic enzymes in hyperglycemia-induced testicular injury in type 2 diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3), e12764.
271. Liu, G. L., Zhang, Y. M., Dai, D. Z., Ding, M. J., Cong, X. D., ve Dai, Y. (2013). Male hypogonadism induced by high fat diet and low dose streptozotocin is mediated by activated endoplasmic reticulum stress and I κ B β and attenuated by argirein and valsartan. *European Journal of Pharmacology*, 713(1-3), 78-88.
272. Simón, L., Funes, A. K., Yapur, M. A., Cabrillana, M. E., Monclus, M. A., Boarelli, P. V., Vincenti, A. E., Saez Lancellotti, T. E., ve Fornés, M. W. (2017). Manchette-acrosome disorders during spermiogenesis and low efficiency of seminiferous tubules in hypercholesterolemic rabbit model. *PloS One*, 12(2), e0172994.
273. Saez Lancellotti, T. E., Boarelli, P. V., Monclus, M. A., Cabrillana, M. E., Clementi, M. A., Espínola, L. S., Cid Barría, J. L., Vincenti, A. E., Santi, A. G., ve Fornés, M. W. (2010). Hypercholesterolemia Impaired Sperm Functionality in Rabbits. *PloS One*, 5(10), e13457.
274. Mu, Y., Yin, T. L., Yin, L., Hu, X., ve Yang, J. (2018). CTRP3 attenuates high-fat diet-induced male reproductive dysfunction in mice. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 132(8), 883-899.
275. Fan, Y., Liu, Y., Xue, K., Gu, G., Fan, W., Xu, Y., ve Ding, Z. (2015). Diet-induced obesity in male C57BL/6 mice decreases fertility as a consequence of disrupted blood-testis barrier. *PloS One*, 10(4), e0120775.
276. Sinha Hikim, A. P., ve Swerdloff, R. S. (1999). Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis. *Reviews of Reproduction*, 4(1), 38-47.
277. Pareek, T. K., Joshi, A. R., Sanyal, A., ve Dighe, R. R. (2007). Insights into male germ cell apoptosis due to depletion of gonadotropins caused by GnRH antagonists. *Apoptosis*, 12(6), 1085-1100.
278. Fortin, J., Boehm, U., Deng, C. X., Treier, M., ve Bernard, D. J. (2014). Follicle-stimulating hormone synthesis and fertility depend on SMAD4 and FOXL2. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 28(8), 3396-3410.
279. Joshi, A. R., ve Dighe, R. R. (2006). Expression of apoptotic genes in testicular germ cells and their modulation by luteinizing hormone. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 101(1), 22-30.

280. Vera, Y., Erkkilä, K., Wang, C., Nunez, C., Kyttänen, S., Lue, Y., Dunkel, L., Swerdloff, R. S., ve Sinha Hikim, A. P. (2006). Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and inducible nitric oxide synthase in apoptotic signaling of murine and human male germ cells after hormone deprivation. *Molecular Endocrinology*, 20(7), 1597-1609.
281. Jia, Y., Lue, Y. H., Swerdloff, R., Lee, K. W., Cobb, L. J., Cohen, P., ve Wang, C. (2013). The cytoprotective peptide humanin is induced and neutralizes Bax after pro-apoptotic stress in the rat testis. *Andrology*, 1(4), 651-659.
282. Long, L., Qiu, H., Cai, B., Chen, N., Lu, X., Zheng, S., Ye, X., ve Li, Y. (2018). Hyperglycemia induced testicular damage in type 2 diabetes mellitus rats exhibiting microcirculation impairments associated with vascular endothelial growth factor decreased via PI3K/Akt pathway. *Oncotarget*, 9(4), 5321-5336.
283. Tian, Y., Xiao, Y. H., Geng, T., Sun, C., Gu, J., Tang, K. F., Liu, B., Liu, Y. M., ve Sun, F. (2021). Clusterin suppresses spermatogenic cell apoptosis to alleviate diabetes-induced testicular damage by inhibiting autophagy via the PI3K/AKT/mTOR axis. *Biology of the Cell*, 113(1), 14-27.
284. Suleiman, J. B., Nna, V. U., Zakaria, Z., Othman, Z. A., Eleazu, C. O., Abu Bakar, A. B., Ahmad, A., Usman, U. Z., Abdul Rahman, W. F. W., ve Mohamed, M. (2020). Protective effects of bee bread on testicular oxidative stress, NF- κ B-mediated inflammation, apoptosis and lactate transport decline in obese male rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 131, 110781.
285. Suleiman, J. B., Nna, V. U., Zakaria, Z., Othman, Z. A., Bakar, A. B. A., ve Mohamed, M. (2020). Obesity-induced testicular oxidative stress, inflammation and apoptosis: Protective and therapeutic effects of orlistat. *Reproductive Toxicology*, 95, 113-122.
286. Verderame, M., Migliaccio, V., ve Scudiero, R. (2018). Role of estrogen receptors, P450 aromatase, PCNA and p53 in high-fat-induced impairment of spermatogenesis in rats. *Comptes Rendus Biologies*, 341(7-8), 371-379.
287. Rao, P. M., Kelly, D. M., ve Jones, T. H. (2013). Testosterone and insulin resistance in the metabolic syndrome and T2DM in men. *Nature Reviews Endocrinology*, 9(8), 479-493.
288. Wake, D. J., Strand, M., Rask, E., Westerbacka, J., Livingstone, D. E., Soderberg, S., Andrew, R., Yki-Jarvinen, H., Olsson, T., ve Walker, B. R. (2007). Intra-adipose sex steroid metabolism and body fat distribution in idiopathic human obesity. *Clinical Endocrinology*, 66(3), 440-446.

289. Zerradi, M., Dereumetz, J., Boulet, M. M., ve Tchernof, A. (2014). Androgens, body fat Distribution and Adipogenesis. *Current Obesity Reports*, 3(4), 396-403.
290. Kelly, D. M., Akhtar, S., Sellers, D. J., Muraleedharan, V., Channer, K. S., ve Jones, T. H. (2016). Testosterone differentially regulates targets of lipid and glucose metabolism in liver, muscle and adipose tissues of the testicular feminised mouse. *Endocrine*, 54(2), 504-515.
291. Xu, Y., Lei, H., Guan, R., Gao, Z., Li, H., Wang, L., Song, W., Gao, B., ve Xin, Z. (2014). Studies on the mechanism of testicular dysfunction in the early stage of a streptozotocin induced diabetic rat model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 450(1), 87-92.
292. Abd El-Hakim, Y. M., Abdel-Rahman Mohamed, A., Khater, S. I., Hamed Arisha, A., Metwally, M. M. M., Nassan, M. A., ve Hassan, M. E. (2020). Chitosan-Stabilized Selenium Nanoparticles and Metformin Synergistically Rescue Testicular Oxidative Damage and Steroidogenesis-Related Genes Dysregulation in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Antioxidants (Basel)*, 10(1).
293. Fan, W., Xu, Y., Liu, Y., Zhang, Z., Lu, L., ve Ding, Z. (2017). Obesity or Overweight, a Chronic Inflammatory Status in Male Reproductive System, Leads to Mice and Human Subfertility. *Frontiers in Physiology*, 8, 1117.
294. Funes, A., Saez Lancellotti, T. E., Santillan, L. D., Della Vedova, M. C., Monclus, M. A., Cabrillana, M. E., Gomez Mejiba, S. E., Ramirez, D. C., ve Fornes, M. W. (2019). A chronic high-fat diet causes sperm head alterations in C57BL/6J mice. *Heliyon*, 5(11), e02868-e02868.
295. White, M. F. (2002). IRS proteins and the common path to diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 283(3), E413-422.
296. Charreau, E. H., Calvo, J. C., Tesone, M., de Souza Valle, L. B., ve Barañao, J. L. (1978). Insulin regulation of Leydig cell luteinizing hormone receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 253(8), 2504-2506.
297. Tesone, M., de Souza Valle, L. B., Foglia, V. G., ve Charreau, E. H. (1976). Endocrine function of the testis in streptozotocin diabetic rats. *Acta Physiologica Latino Americana*, 26(5), 387-394.
298. Ballester, J., Muñoz, M. C., Domínguez, J., Rigau, T., Guinovart, J. J., ve Rodríguez-Gil, J. E. (2004). Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *Journal of Andrology*, 25(5), 706-719.

299. Zhao, Y., Tan, Y., Dai, J., Wang, B., Li, B., Guo, L., Cui, J., Wang, G., Li, W., ve Cai, L. (2012). Zinc deficiency exacerbates diabetic down-regulation of Akt expression and function in the testis: essential roles of PTEN, PTP1B and TRB3. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(8), 1018-1026.
300. Mohamed, M. Z., Hafez, H. M., Zenhom, N. M., ve Mohammed, H. H. (2018). Cilostazol alleviates streptozotocin-induced testicular injury in rats via PI3K/Akt pathway. *Life Sciences*, 198, 136-142.
301. Filippi, S., Vignozzi, L., Morelli, A., Chavalmane, A. K., Sarchielli, E., Fibbi, B., Saad, F., Sandner, P., Ruggiano, P., Vannelli, G. B., Mannucci, E., ve Maggi, M. (2009). Testosterone partially ameliorates metabolic profile and erectile responsiveness to PDE5 inhibitors in an animal model of male metabolic syndrome. *The Journal of Sexual Medicine*, 6(12), 3274-3288.
302. Cui, X., Long, C., Zhu, J., ve Tian, J. (2017). Protective Effects of Fluvastatin on Reproductive Function in Obese Male Rats Induced by High-Fat Diet through Enhanced Signaling of mTOR. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 41(2), 598-608.
303. Yang, X., Zhao, Y., Sun, Q., Yang, Y., Gao, Y., Ge, W., Liu, J., Xu, X., ve Zhang, J. (2020). Adenosine accumulation causes metabolic disorders in testes and associates with lower testosterone level in obese mice. *Molecular Reproduction and Development*, 87(2), 241-250.
304. Kaufman, J. M., ve Vermeulen, A. (2005). The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocrine Reviews*, 26(6), 833-876.
305. Eckel, R. H., Grundy, S. M., ve Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet*, 365(9468), 1415-1428.
306. Lie, P. P., Cheng, C. Y., ve Mruk, D. D. (2011). Interleukin-1alpha is a regulator of the blood-testis barrier. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 25(4), 1244-1253.
307. Li, M. W., Mruk, D. D., Lee, W. M., ve Cheng, C. Y. (2009). Cytokines and junction restructuring events during spermatogenesis in the testis: an emerging concept of regulation. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 20(4), 329-338.
308. Xia, W., Mruk, D. D., Lee, W. M., ve Cheng, C. Y. (2005). Cytokines and junction restructuring during spermatogenesis--a lesson to learn from the testis. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 16(4-5), 469-493.

309. Cheng, C. Y., ve Mruk, D. D. (2012). The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacological Reviews*, 64(1), 16-64.
310. Mruk, D. D., ve Cheng, C. Y. (2004). Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrine Reviews*, 25(5), 747-806.
311. Wu, S., Yan, M., Ge, R., ve Cheng, C. Y. (2020). Crosstalk between Sertoli and Germ Cells in Male Fertility. *Trends in Molecular Medicine*, 26(2), 215-231.
312. Mao, B., Bu, T., Mruk, D., Li, C., Sun, F., ve Cheng, C. Y. (2020). Modulating the Blood-Testis Barrier Towards Increasing Drug Delivery. *Trends in Pharmacological Sciences*, 41(10), 690-700.
313. Liu, B., Wu, S. D., Shen, L. J., Zhao, T. X., Wei, Y., Tang, X. L., Long, C. L., Zhou, Y., He, D. W., Lin, T., ve Wei, G. H. (2019). Spermatogenesis dysfunction induced by PM(2.5) from automobile exhaust via the ROS-mediated MAPK signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167, 161-168.
314. Yi, W. E. I., Xiang-Liang, T., Yu, Z., Bin, L., Lian-Ju, S., Chun-Lan, L., Tao, L. I. N., Da-Wei, H. E., Sheng-de, W. U., ve Guang-Hui, W. E. I. (2018). DEHP exposure destroys blood-testis barrier (BTB) integrity of immature testes through excessive ROS-mediated autophagy. *Genes and Diseases*, 5(3), 263-274.
315. Trivedi, P. P., Tripathi, D. N., ve Jena, G. B. (2011). Hesperetin protects testicular toxicity of doxorubicin in rat: role of NFκB, p38 and caspase-3. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 838-847.
316. Zhou, J., Xi, Y., Zhang, J., Tang, J., Zhou, X., Chen, J., Nie, C., Zhu, Z., ve Ma, B. (2020). Protective effect of *Dioscorea zingiberensis* ethanol extract on the disruption of blood-testes barrier in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic mice by upregulating ZO-1 and Nrf2. *Andrologia*, 52(3), e13508.
317. Jiang, Y. P., Yang, J. M., Ye, R. J., Liu, N., Zhang, W. J., Ma, L., Zheng, P., Niu, J. G., Liu, P., ve Yu, J. Q. (2019). Protective effects of betaine on diabetic induced disruption of the male mice blood-testis barrier by regulating oxidative stress-mediated p38 MAPK pathways. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 120, 109474.
318. Ye, J., Luo, D., Xu, X., Sun, M., Su, X., Tian, Z., Zhang, M., Yu, C., ve Guan, Q. (2019). Metformin Improves Fertility in Obese Males by Alleviating

Oxidative Stress-Induced Blood-Testis Barrier Damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 9151067.

319. Wang, X., Zhang, X., Hu, L., ve Li, H. (2018). Exogenous leptin affects sperm parameters and impairs blood testis barrier integrity in adult male mice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 55.
320. Jarvis, S., Gethings, L. A., Samanta, L., Pedroni, S. M. A., Withers, D. J., Gray, N., Plumb, R. S., Winston, R. M. L., Williamson, C., ve Bevan, C. L. (2020). High fat diet causes distinct aberrations in the testicular proteome. *International Journal of Obesity (2005)*, 44(9), 1958-1969.
321. Shibata, K., ve Fukuwatari, T. (2013). High d(+)-fructose diet adversely affects testicular weight gain in weaning rats—protection by moderate d(+)-glucose diet. *Nutrition and Metabolic Insights*, 6, 29-34.
322. Sakamuri, A., Pitla, S., Putcha, U. K., Jayapal, S., Pothana, S., Vadakattu, S. S., Konapalli, N. R., Sakamuri, S. S., ve Ibrahim, A. (2016). Transient Decrease in Circulatory Testosterone and Homocysteine Precedes the Development of Metabolic Syndrome Features in Fructose-Fed Sprague Dawley Rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2016, 7510840.
323. Sohrabi, M., ve Torabian, S. (2019). The Effects of Curcuma Longa L. on Testicular SLC2A5 Expression and Sperm Parameters in Rat with High Fructose Corn Syrup Diet. *Journal of Biochemical Technology*, 10(1), 11.
324. Pasko, P., Barton, H., Zagrodzki, P., Izewska, A., Krosniak, M., Gawlik, M., Gawlik, M., ve Gorinstein, S. (2010). Effect of diet supplemented with quinoa seeds on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(2), 146-151.
325. Donia, S. S., ve Alsharaky, D. R. (2016). The role of melatonin on GLUT-1 expression in rat testicular tissue metabolism in metabolic syndrome. *Bioline*, 4(2), 347-356.
326. Akarca-Dizakar, S., Erdoğan, D., Peker, T., Coşkun Akçay, N., Türkoğlu, I., Eşmekaya, M. A., ve Ömeroğlu, S. (2020). Effects of co-administered melatonin, fructose and bisphenol A (BPA) on rat epididymis and sperm characteristics. *Biotechnic and Histochemistry* 95(1), 18-26.
327. Dimauro, I., Pearson, T., Caporossi, D., ve Jackson, M. J. (2012). A simple protocol for the subcellular fractionation of skeletal muscle cells and tissue. *BioMed Central Research Notes*, 5, 513.
328. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., ve Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.

329. Luna, L. G. (1968). *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. New York: Blakiston Division, McGraw-Hill.
330. Hannou, S. A., Haslam, D. E., McKeown, N. M., ve Herman, M. A. (2018). Fructose metabolism and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(2), 545-555.
331. Ramos, V. W., Batista, L. O., ve Albuquerque, K. T. (2017). Effects of fructose consumption on food intake and biochemical and body parameters in Wistar rats. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 36(12), 937-941.
332. Mahmoud, M. F., ve El Bassossy, H. M. (2014). Curcumin attenuates fructose-induced vascular dysfunction of isolated rat thoracic aorta rings. *Pharmaceutical Biology*, 52(8), 972-977.
333. Dupas, J., Feray, A., Goanvec, C., Guernec, A., Samson, N., Bougaran, P., Guerrero, F., ve Mansourati, J. (2017). Metabolic Syndrome and Hypertension Resulting from Fructose Enriched Diet in Wistar Rats. *BioMed Research International*, 2017, 2494067.
334. Ventura, E. E., Davis, J. N., ve Goran, M. I. (2011). Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. *Obesity (Silver Spring)*, 19(4), 868-874.
335. Rönn, M., Lind, P. M., Karlsson, H., Cvek, K., Berglund, J., Malmberg, F., Orberg, J., Lind, L., Ortiz-Nieto, F., ve Kullberg, J. (2013). Quantification of total and visceral adipose tissue in fructose-fed rats using water-fat separated single echo MRI. *Obesity (Silver Spring)*, 21(9), E388-395.
336. Ishimoto, T., Lanaspá, M. A., Le, M. T., Garcia, G. E., Diggle, C. P., Maclean, P. S., Jackman, M. R., Asipu, A., Roncal-Jimenez, C. A., Kosugi, T., Rivard, C. J., Maruyama, S., Rodriguez-Iturbe, B., Sánchez-Lozada, L. G., Bonthron, D. T., Sautin, Y. Y., ve Johnson, R. J. (2012). Opposing effects of fructokinase C and A isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(11), 4320-4325.
337. Mamikutty, N., Thent, Z. C., Sapri, S. R., Sahrudin, N. N., Mohd Yusof, M. R., ve Haji Suhaimi, F. (2014). The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed Research International*, 2014, 263897.
338. Abdulla, M. H., Sattar, M. A., ve Johns, E. J. (2016). Effects of tempol on altered metabolism and renal vascular responsiveness in fructose-fed rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(2), 210-218.

339. Dornas, W. C., Cardoso, L. M., Silva, M., Machado, N. L., Chianca, D. A., Jr., Alzamora, A. C., Lima, W. G., Lagente, V., ve Silva, M. E. (2017). Oxidative stress causes hypertension and activation of nuclear factor- κ B after high-fructose and salt treatments. *Scientific Reports*, 7, 46051.
340. Ibrahim, M. A., Amin, E. F., Ibrahim, S. A., Abdelzaher, W. Y., ve Abdelrahman, A. M. (2014). Montelukast and irbesartan ameliorate metabolic and hepatic disorders in fructose-induced metabolic syndrome in rats. *European Journal of Pharmacology*, 724, 204-210.
341. Kantar, Ş., Türközkan, N., Bircan, F. S., ve Paşaoğlu Ö, T. (2015). Beneficial effects of melatonin on serum nitric oxide, homocysteine, and ADMA levels in fructose-fed rats. *Pharmaceutical Biology*, 53(7), 1035-1041.
342. Korkmaz, O. A., Sadi, G., Kocabas, A., Yildirim, O. G., Sumlu, E., Koca, H. B., Nalbantoglu, B., Pektas, M. B., ve Akar, F. (2019). Lactobacillus helveticus and Lactobacillus plantarum modulate renal antioxidant status in a rat model of fructose-induced metabolic syndrome. *Archives of Biological Sciences*, 71(2), 265-273.
343. Stanhope, K. L. (2016). Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 53(1), 52-67.
344. Samuel, V. T. (2011). Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 22(2), 60-65.
345. Payne, A. H., ve Youngblood, G. L. (1995). Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. *Biology of Reproduction*, 52(2), 217-225.
346. Koh, P. O. (2007). Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pBad/14-3-3 in rat testis. *Life Sciences*, 81(13), 1079-1084.
347. Gogvadze, V., Orrenius, S., ve Zhivotovsky, B. (2006). Multiple pathways of cytochrome c release from mitochondria in apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1757(5-6), 639-647.
348. Xu, Y. R., Dong, H. S., ve Yang, W. X. (2016). Regulators in the apoptotic pathway during spermatogenesis: Killers or guards? *Gene*, 582(2), 97-111.
349. Aly, H. A., ve Khafagy, R. M. (2014). Taurine reverses endosulfan-induced oxidative stress and apoptosis in adult rat testis. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 1-9.

350. Almeida, C., Correia, S., Rocha, E., Alves, A., Ferraz, L., Silva, J., Sousa, M., ve Barros, A. (2013). Caspase signalling pathways in human spermatogenesis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(4), 487-495.
351. Ducsay, C. A., ve Myers, D. A. (2011). eNOS activation and NO function: differential control of steroidogenesis by nitric oxide and its adaptation with hypoxia. *The Journal of Endocrinology*, 210(3), 259-269.
352. Aksoy, H., Aksoy, Y., Ozbey, I., Altuntas, I., ve Akçay, F. (2000). The relationship between varicocele and semen nitric oxide concentrations. *Urological Research*, 28(6), 357-359.
353. Burant, C. F., Takeda, J., Brot-Laroche, E., Bell, G. I., ve Davidson, N. O. (1992). Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(21), 14523-14526.
354. Corpe, C. P., Bovelander, F. J., Munoz, C. M., Hoekstra, J. H., Simpson, I. A., Kwon, O., Levine, M., ve Burant, C. F. (2002). Cloning and functional characterization of the mouse fructose transporter, GLUT5. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1576(1-2), 191-197.
355. Gow, A., Southwood, C. M., Li, J. S., Pariali, M., Riordan, G. P., Brodie, S. E., Danias, J., Bronstein, J. M., Kachar, B., ve Lazzarini, R. A. (1999). CNS myelin and sertoli cell tight junction strands are absent in Osp/claudin-11 null mice. *Cell*, 99(6), 649-659.
356. Mazaud-Guittot, S., Meugnier, E., Pesenti, S., Wu, X., Vidal, H., Gow, A., ve Le Magueresse-Battistoni, B. (2010). Claudin 11 deficiency in mice results in loss of the Sertoli cell epithelial phenotype in the testis. *Biology of Reproduction*, 82(1), 202-213.
357. Li, M. W., Xia, W., Mruk, D. D., Wang, C. Q., Yan, H. H., Siu, M. K., Lui, W. Y., Lee, W. M., ve Cheng, C. Y. (2006). Tumor necrosis factor {alpha} reversibly disrupts the blood-testis barrier and impairs Sertoli-germ cell adhesion in the seminiferous epithelium of adult rat testes. *The Journal of Endocrinology*, 190(2), 313-329.
358. Morgan, D. H., Ghribi, O., Hui, L., Geiger, J. D., ve Chen, X. (2014). Cholesterol-enriched diet disrupts the blood-testis barrier in rabbits. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 307(12), E1125-1130.





EK-1 ETİK KURUL İZNI

Evrak Tarih ve Sayısı: 14.03.2019-E.34150



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Fatma AKAR
Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Fatma AKAR ve Onur Gökhan YILDIRIM'dan oluşan G.Ü.ET-19.019 kod numaralı ve *"Yüksek Fruktoz Diyetinin Sıçanların Testis Dokusunda İnsülin Sinyal Yolu, İnflamasyon ve Apoptozis Üzerine Etkisinin İncelenmesi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.019 and entitled *"Investigation of Effect of Dietary High-Fructose on Insulin Signaling Pathway, Inflammation and Apoptosis in Testis of Rats"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Not: Daha önce onay alan G.Ü.ET-17.069 kod numaralı çalışmada kullanılan 16 adet Wistar Albino Sıçanın testis dokusunun kullanılmasına onay verilmiştir.

Ek: 1 Liste



Ankara
Tel: 0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks: 0 (312) 202 38 76
e-Posta: hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi: http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Burak Çitrak
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:0312 229 78 00

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Etik kurul izin belgesi



EK-2 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : YILDIRIM, Onur Gökhan
 Uyuğu :
 Doğum tarihi ve yeri :
 Medeni Hali :
 Telefon (İş)
 e-posta

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı	2012
Lisans	Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2010
Lise	Trabzon Yomra Fen Lisesi	2005

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2014- Devam ediyor	Artvin Çoruh Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dil Bilgisi

İngilizce

Eserler-Yayınlar

Yildirim, O. G., Sadi, G. ve Akar, F. (2020). Lactobacillus plantarum and Lactobacillus helveticus modulate SIRT1, Caspase3 and Bcl-2 in the testes of high-fructose-fed rats. Journal of the Faculty of Pharmacy of Istanbul University, 50(3), 168-176.

Yildirim, O. G., Sumlu, E., Aslan, E., Koca, H. B., Pektas, M. B., Sadi, G. ve Akar, F. (2019). High-fructose in drinking water initiates activation of inflammatory

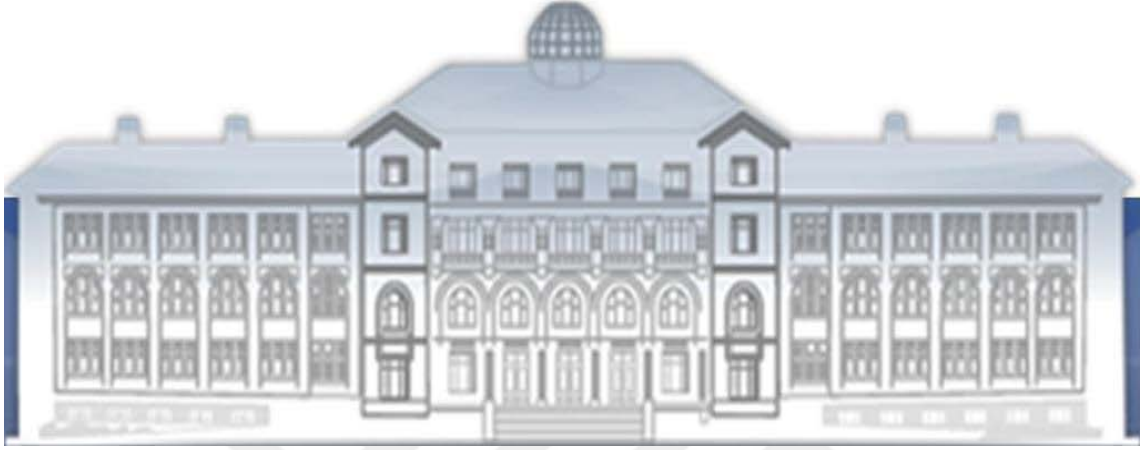
cytokines and testicular degeneration in rat. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(3), 224-232.

Korkmaz, O. A., Sadi, G., Kocabas, A., Yildirim, O. G., Sumlu, E., Koca, H. B., Nalbantoglu, B., Pektas, M. B. ve Akar, F. (2019). *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus plantarum* modulate renal antioxidant status in a rat model of fructose-induced metabolic syndrome. *Archives of Biological Sciences*, 71(2), 265-273.

Pektas, M. B., Yucel, G., Koca, H. B., Sadi, G., Yildirim, O. G., Ozturk, G. ve Akar, F. (2017). Dietary Fructose-Induced Hepatic Injury in Male and Female Rats: Influence of Resveratrol. *Drug Research*, 67(2), 103-110.

Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektas, M. B., Yildirim, O. G., Menevse, A. ve Akar, F. (2015). High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: improving effect of resveratrol. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 895-904.

Qureshi, R., Yildirim, O., Gasser, A., Basmadjian, C., Zhao, Q., Wilmet, J. P., Désaubry, L. ve Nebigil, C. G. (2015). FL3, a Synthetic Flavagline and Ligand of Prohibitins, Protects Cardiomyocytes via STAT3 from Doxorubicin Toxicity. *PloS One*, 10(11), e0141826.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..