

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DENEYSEL METABOLİK SENDROMDA KARACİĞER VE KALP
DOKULARINDA ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ VE
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

MURAT GİRİŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEMRA DOĞRU-ABBASOĞLU**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI**

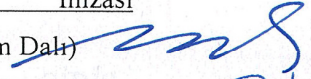
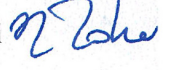
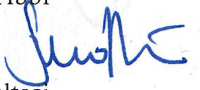
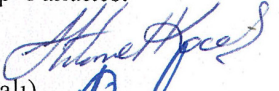

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programında Murat GİRİŞ tarafından hazırlanan Deneysel Metabolik Sendromda Karaciğer ve Kalp Dokularında Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve Ekspresyonlarının İncelenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

23 / 02 / 2012

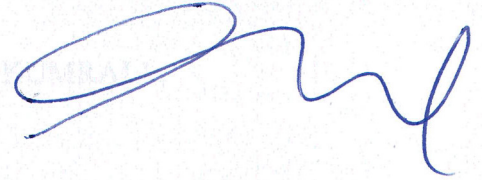
Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr. Müjdat UYSAL (İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)	
2.Prof.Dr. Necla TOKER (Tez İzleme Komitesi Üyesi) İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	
3.Prof.D. Semra DOĞRU ABBASOĞLU (Dinişman) İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	
4.Doç.Dr. Hikmet KOÇAK (Tez İzleme Komitesi Üyesi) Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	
5.Doç.Dr. Jale ÇOBAN (Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı)	

BEYAN

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

Murat GİRİŞ



Teşekkür

Doktora eğitimimdeki katkılarından dolayı Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Müjdat UYSAL'a

Gerek tez gerekse tez aşamalarında bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini benden esirgemeyen , her zaman yanımda olan, kendisi ile çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. Semra DOĞRU-ABBASOĞLU'na

Doktora eğitimim sürecinde beni bilimsel düşünmeye ve araştırmaya nasıl yaklaşmam gerektiği konusunda yol gösteren Prof. Dr. Figen GÜRDÖL'e,
Gelişimimde bilimsel katkılarından dolayı tüm Biyokimya Anabilim dalındaki hocalarımıza

Tez aşamasında patoloji kesitlerinin incelenmesi ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç Dr. Vakur OLGAÇ'a

Doktora tez aşamasındaki yardımlarından dolayı Dr. Alkın KUMRAL'a
En içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 6727

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	II
BEYAN.....	III
İTHAF.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2 2.1. Metabolik sendrom (MetS) nedir?.....	3
2 2.2. MetS'un tanı kriterleri.....	3
2 2.3. MetS bileşenleri.....	5
2.3.1 İnsülin direnci.....	5
2.3.2. Obezite.....	6
2.3.3. T2DM.....	6
2.3.4. Dislipidemi.....	7
2.3.5. Karaciğer yağlanması.....	7
2.3.6. Hipertansiyon.....	7
2.3.7 KAH.....	7
2.3.8. Polikistik over sendromu (PKOS).....	7
2.3.9. İnflamasyon.....	8
2.3.10. Endotel Disfonksiyonu.....	8
2.3.11. Hiperkoagülabilité.....	8
2 2.4. MetS prevalansı.....	8
2 2.5. MetS prevalansındaki artışın früktozla ilişkisi.....	9
2 2.6. Früktozun emilimi ve metabolizması.....	10

2.6.1. Fruktozun emilimi.....	10
2.6.2 Früktoz metabolizması.....	11
2 2.7. Früktozun MetS oluşumundaki rolü.....	12
2 2.8. Früktozdan serbest oksijen radikallerinin (ROS) üretilmesi.....	14
2 2.9. Serbest radikaller, prooksidan-antioksidan denge.....	15
2.9.1.Serbest radikallerin lipitlere etkisi.....	19
2.9.2.Serbest radikallerin proteinlere etkisi.....	19
2.9.3.Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi.....	20
2 2.10. MetS ve oksidatif stres ilişkisi.....	24
2 2.11. Karnozin, yapısı ve özellikleri.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1. Deney grupları.....	26
3.2. Serum / plazmada yapılan incelemeler.....	26
3.3. Karaciğer ve kalp dokularında yapılan incelemeler.....	26
3.3.1. Doku homojenatlarının hazırlanması ve postmitokondri fraksiyonlarının eldesi.....	27
3.3.2 Doku lipit ekstraktlarının hazırlanması.....	27
3.3.3 Malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesi.....	27
3.3.4. Dien konjugat (DK) düzeylerinin ölçümü.....	28
3.3.5. Glutasyon (GSH) düzeylerinin ölçülmesi.....	28
3.3.5. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçülmesi.....	29
3.3.6. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçülmesi.....	30
3.3.7. Protein tayini.....	30
3.3.9. Western Blot Yöntemi ile GSH-Px ve SOD enzimlerinin ekspresyonu	31
3.3.8. Histopatolojik incelemeler.....	31
3.3.9. İstatistik incelemeler.....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	46
6. KAYNAKLAR.....	50
ETİK KURUL KARARI.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	62

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. MetS tanı kriterleri (Dünya Sağlık Örgütü-1999).....	4
Tablo 2 : Tablo 2. MetS tanı kriterleri.....	4
Tablo 3. MetS tanı kriterleri (<i>International Diabetes Foundation (IDF)</i> -2005).....	5
Tablo 4. MetS tanı kriterleri (Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği, MetS Çalışma grubu, 2005).....	5
Tablo 5. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler.....	17
Tablo 6. Organizmada antioksidan sistem elemanları.....	21
Tablo 7. Çalışmada kullanılan hazır yemlerin içerikleri.....	5
Tablo 8. Serum glikoz ve kan HbA _{1c} düzeyleri.....	35
Tablo 9. Serum TG, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri.....	35
Tablo 10. Serum ALT, AST), LDH ve CK aktiviteleri.....	36
Tablo 11. Karaciğer MDA ve DK düzeyleri.....	36
Tablo 12. Karaciğer GSH düzeyleri, SOD ve SH-Px aktiviteleri.....	37
Tablo 13. Kalp MDA ve DK düzeyleri.....	37
Tablo 14. Kalp GSH düzeyleri, SOD ve SH-Px aktiviteleri.....	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Normal koşullarda (a) ve YFD ile beslenmede (b) früktozun jejenumdan absorpsiyonunda Glut2 ve Glut5'in rolü ve yerlişimi.....	11
Şekil 2. Früktoz ve glikozdan trigiserit sentezini düzenleyen yolların karşılaştırılması.....	12
Şekil 3. Glikoz ve früktozun moleküler şekilleri.....	14
Şekil 4. Früktozdan reaktif oksijen radikallerinin üretilmesi.....	16
Şekil 5. Hücrenin mitokondri fraksiyonunda radikal oluşumu.....	18
Şekil 6. Lipit peroksidasyonu reaksiyonları.....	20
Şekil 7. Karaciğer ve kalp dokusunda MDA düzeyleri.....	39
Şekil 8. Karaciğer ve kalp dokusunda DK düzeyleri.....	40
Şekil 9. Karaciğer ve kalp dokusunda GSH düzeyleri.....	41
Şekil 10. Karaciğer ve kalp dokusunda SOD aktivitesi.....	42
Şekil 11. Karaciğer ve kalp dokusunda GSH-Px aktivitesi.....	43
Şekil 12. Karaciğer dokusunda superoksit dismutaz ekspresyonu	44
Şekil 13. Karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz ekspresyonu.....	45
Şekil 14. Karaciğer histopatoloji görüntüleri.....	46

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ADP	Adenozin difosfat
ALT	Alanin transaminaz
AMP	Adenozin monofostat
ATP	Adenozin trifosfat
AST	Aspartat transaminaz
CK	Kreatin kinaz
CRP	C-reaktif protein
DK	Dien konjugatı
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	Elman ayıracı
GIR	Glucose insülin ratio
GLUT	Kolaylaştırıcı glikoz taşıyıcısı
GSH	Glutasyon
GSH-R	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA	Homeostasis model assesment
H&E	Hematoksilen eosin
JNK	c-Jun amino terminal kinaz
IRS	İnsülin reseptör substratı
KAH	Koroner arter hastalığı
L [·]	Lipit radikali
LDH	Laktat dehidrojenaz
LDL	Küçük dansiteli lipoprotein
LOO [·]	Lipid peroksil radikali

LOOH	Lipit hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
MetS	Metabolik sendrom
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NFkB	Nükleer faktör kapa B
NO	Nitrik oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
LH	Çok doymamış yağ asidi
QUCKI	Quantitative insülin sensitivity index
PK	Protein karbonil
PKOS	Polikistik over sendromu
PPAR- α	Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- α
ROOH	Organik hidroperoksit
ROS	Reactive oxygen species
-SH	Sülfidril
SOD	Süperoksit dismutaz
SREBP-1c	Sterol regülatör element-bağlayıcı protein
TBA	Tiyobarbütirik asit
TEP	Tetraepoksiopropan
TG	Trigliserit
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
VKİ	Vücut kitle indeksi
YA	Yağ asidi

ÖZET

Giriş, M (2011). Deneysel Metabolik Sendromda Karaciğer ve Kalp Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve Ekspresyonlarının İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya AD. Doktora Tezi, İstanbul.

Anahtar Kalimeler: Metabolik sendrom, karnozin, E vitamini, oksidatif stres, karaciğer yağlanması

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6727

Metabolik sendrom (MetS), insülin direnci, obezite, dislipidemi, hipertansiyon, ve karaciğer yağlanması ile karakterize bir hastalıktır.. Yüksek früktozlu diyetle (YFD) beslemek deneysel MetS modelidir. YFD, insülin direncini arttırmakta, dislipidemi ve karaciğer yağlanmasına neden olmaktadır. YFD'nin oksidatif stresi arttırdığı, glikozun otooksidasyonuna ve antioksidan sistemde değişikliğe yol açtığı ileri sürülmektedir. Son yıllarda çeşitli antioksidan bileşiklerin YFD'ye bağlı patolojileri önleyici/azaltıcı etkileri araştırılmaktadır.

Karnozin antioksidan bir dipeptid olup oksidatif stresle bağlantılı patolojilerin düzeltilmesinde etkili olduğu ileri sürülmektedir. Çalışmamızda YFD ile oluşturulan deneysel MetS'da sıçanlarda insülin direnci, dislipidemi, karaciğer yağlanması ve prooksidan-antioksidan sistemde bir değişiklik olup olmadığını belirlemek istendi. YFD'nin kalp dokusunda da oksidatif stres üzerine etkisi incelendi. Ayrıca, karnozin ve karnozin+E vitamininin YFD'ye bağlı değişiklikleri azaltma/engelleme potansiyeli olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla, sıçanlara 8 hafta süreyle % 60 früktoz içeren diyet uygulandı. Ayrıca, bir grup sıçana YFD'ye ek olarak, karnozin (2 g/L, içme suyunda), diğer gruba ise karnozin+E vitamini (200 mg/kg, i.m., haftada 2 kez) verildi. Bulgularımıza göre, YFD sıçanlarda serumda glikoz ve trigliserit düzeylerinde artışa ve karaciğerde yağlanmaya neden oldu. Karaciğerde dien konjugatı düzeylerinde artış, glutasyon peroksidaz aktivitesinde ve ekspresyonunda bir azalma görüldü. Kalpte ise prooksidan-antioksidan dengede ve histopatolojik görünümünde bir değişiklik saptanmadı. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamaları YFD'ye bağlı hiperglisemi ve trigliseridemiye azaltıcı bir etki göstermediği halde, karaciğer yağlanması her iki grupta da azaldı. Karaciğer yağlanması ve oksidatif stres üzerine karnozin+vitamin E'nin birlikte kullanımının karnozine oranla daha etkili olduğu sonucuna varıldı.

ABSTRACT

Giriş, M (2011). The Investigation of Antioxidant Enzyme Activities and Expressions in Liver and Heart in Experimental Metabolic Syndrome. İstanbul University, Institute of Health Science, Biochemistry. PhD Thesis, İstanbul.

Key Words: Metabolic syndrome, carnosine, vitamin E, oxidative stress, fatty liver

The present work was supported by Research Fund of İstanbul University. Project No: 6727

The metabolic syndrome (MetS) is a disease characterized by insulin resistance, obesity, dyslipidemia and fatty liver. High fructose diet (HFD) has been used for experimental MetS model. HFD increases the insulin resistance and causes dyslipidemia and fatty liver. HFD was reported to cause oxidative stress, glucose autooxidation and changes in antioxidant system. Recently, preventive/detractive effects of several antioxidants are investigated in HFD-related pathologies.

Carnosine is an antioxidant dipeptide. It has been suggested that it is effective to improve oxidative stress-related pathologies. We investigated whether experimental HFD-induced MetS cause insulin resistance, dyslipidemia, fatty liver and prooxidant and antioxidant balance in liver and heart tissues of rats. It was evaluated whether carnosine and carnosine+vitamin E has preventive/detractive potential. For this purpose, a diet containing 60% fructose was applied to rats. In addition to HFD, carnosine (2 g/L, drinking water) to one group, carnosine+ vitamin E (200 mg/kg, i.m., twice a week) to another group were given. According to our results, HFD caused increases in serum glucose and triglyceride levels and fatty liver. It was observed an increase in diene conjugate levels and a decrease in glutathione peroxidase activity and expression in liver. There were no changes prooxidant-antioxidant balance and histopathological appearance in heart. The treatments of carnosine alone or carnosine+vitamin E did not show detractive effect in HFD-related hyperglycemia and hypertriglyceridemia, fattyness of the liver decreased in both groups. It is concluded that carnosine plus Vitamin E treatment is more effective than carnosine alone on oxidative stress and fatty liver.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Metabolik sendrom (MetS), obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon, insülin direnci ve karaciğer yağlanması ile karakterize bir klinik tablo olup, özellikle gelişmiş ülkelerde önemli bir sağlık problemidir (98). Son yıllardaki epidemiyolojik ve biyokimyasal çalışmalar diyetle yüksek miktarda früktoz alımının MetS gelişiminde önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Meyvelerin çoğunda doğal olarak bulunan früktoz, günümüzde hazır yiyecekler ve içecekler ile çok fazla miktarda alınmaktadır (12,98). Früktozun glikoz ve nişastadan daha lipojenik olduğu, karaciğerde trigliserit (TG) sentezini ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) üretimini arttırdığı klinik ve deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (33,63). MetS'da serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)-kolesterol düzeyleri de azalmakta ve bu durum hipertansiyonla birlikte kardiovasküler hastalık için bir risk oluşturmaktadır. Gerçekten, MetS'da mortalitenin ana nedeninin koroner arter hastalığı (KAH) olduğu bildirilmektedir (12).

Deney hayvanlarını yüksek früktozlu diyet (YFD) ile besleme, MetS için deneysel bir model olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır (12,72,98). YFD deney hayvanlarında glukoz intoleransına yol açmakta, insülin direncini arttırmakta, dislipidemi ve karaciğer yağlanmasına neden olmakta olup MetS için güzel bir model oluşturmaktadır. (12,72,98). YFD, metabolizması başlıca karaciğerde olduğundan, toksik etkiler genellikle karaciğerde görülmektedir (2,50,53,93,118). Bununla birlikte, karaciğer dışı kalp, böbrek, kas gibi dokularda da bazı toksik etkilerin olduğu bildirilmektedir (24,50,72,87,89,99).

YFD'in organizmada oksidatif stresi ve inflamatuvar olayları arttırdığı gösterilmiştir (35,72). YFD serbest radikal oluşumunda artışa, glukozun otooksidasyonuna, protein glikasyonuna ve antioksidan savunma sistemlerinde değişikliğe yol açmaktadır. Hiperglisemik koşulların uzaması süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin azalmasına neden olmaktadır (35,72,75). Ayrıca, gliseraldehit, gliseraldehit 3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfat gibi ara metabolitler üzerinden reaktif aldehytlerin üretimi artmaktadır (120). YFD heksoz monofosfat yolu enzimlerinin "down" regülasyonuna ve dolayısıyla NADH ve NADPH oluşumunun azalmasına neden olmaktadır. Früktoz katabolizmasındaki artış enerji "depleasyonu" yaratarak hücreleri peroksidasyona daha duyarlı hale getirmektedir (72).

YFD ile beslenmede ortaya çıkan patolojik değişimlerde oksidatif stresdeki artışların önemli bir rol oynadığının saptanması ile birlikte, çeşitli antioksidan bileşiklerin bu

patolojileri önleyici veya azaltıcı etkileri de araştırılmaya başlamıştır (6,25, 83,84,86,108,118). Antioksidan tedavinin bu patolojilerin düzeltilmesinde yararlı olabileceği ileri sürülmektedir (2,25,49,50,53,72,84,87,89,93,118).

Karnozin β -alanil-L-histidin yapısında olup beyin, iskelet kası ve karaciğer başta olmak üzere birçok dokuda endojen olarak sentezlenen bir dipeptidtir (4,14,40). Son yıllarda giderek önem kazanan bu bileşik proton tamponlaması, metaller ile kelatlaşma, anti-glikozilleme, yara iyileştirme gibi fonksiyonlarının yanı sıra antioksidan, anti-tümöral, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (40). Karnozinin tirozin nitrolanması gibi peroksinitrite bağlı gelişen proteinlerdeki değişiklikleri engellediği de bildirilmektedir (32). Öte yandan, karnozin E vitamini ile birlikte kullanıldığında dokularda birikiminin daha yoğun olduğu ve antioksidan etkinliğinin arttığı saptanmıştır (44,64). Bizim (7,8,9,65) ve diğer araştırmacıların yaptığı çalışmalarla (27,39,41,42,57,60,66,88) karnozinin yaşlanmada, aterosklerozda, diabetes mellitus komplikasyonlarının ve karaciğer hasarının önlenmesinde yararlı bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yaşlanmada ve Alzheimer hastalığında etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Ancak karnozinin MetS üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda birinci amacımız YFD ile oluşturulan deneysel MetS'da sıçanlarda insülin direnci, dislipidemi ve karaciğer yağlanması olup oluşmadığını belirlemek, bu değişimlere karaciğerde prooksidan-antioksidan sistemdeki bir değişikliğin eşlik edip etmediğini saptamaktır. Ayrıca YFD ile beslenmenin kalp dokusunda da oksidatif strese yol açıp açmadığını araştırmaktır. İkinci amacımız ise güçlü antioksidan etkileri olan karnozinin tek başına ve E vitamini ile birlikte uygulanmasının YFD'ye bağlı MetS bulgularını azaltma/engelleme potansiyeli olup olmadığını incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik sendrom (MetS) nedir?

MetS, insülin direnciyle başlayan, abdominal obezite, glikoz intoleransı veya Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), dislipidemi, hipertansiyon ve KAH gibi bozuklukların birbiri üzerine eklendiği sistemik bir endokrinopatidir. İlk kez 1988 yılında Reaven tarafından tanımlanmıştır (91). Reaven insülin direncini glikoz intoleransı, hiperinsülinemi, artmış VLDL, azalmış HDL ve hipertansiyon ile ilişkilendirmiş, ancak orijinal tanımlamaya obeziteyi dahil etmemiştir. Obezitenin insülin direnci ile sonuçlanan metabolik değişikliklere yol açabildiği daha sonraki yıllarda fark edilerek tanımı genişletilmiştir (29). Bu sendroma insülin direnci sendromu, sendrom X, polimetabolik sendrom, ölümcül dördü ve uygarlık sendromu gibi farklı isimler de verilmekle birlikte, günümüzde en yaygın olarak MetS terimi kullanılmaktadır (92,109).

2.2. MetS'un tanı kriterleri

MetS için farklı tanı kriterleri önerilmiştir (Tablo 1-3) (3,10,73,116). En yaygın kullanılanı 1999'da Dünya Sağlık Örgütü tarafından tanımlanan kriterlerdir (Tablo 1). Bununla birlikte, 2009 yılında *Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği MetS Çalışma Grubu*, MetS tanı kriterleri arasında insülin direncinin yer alması gerektiğini bildiren bir "MetS kılavuzu" yayınlamıştır (109). İnsülin direncini de içeren 1999-Dünya Sağlık Örgütü MetS tanı kriterleriyle, insülin direncini içermeyen fakat daha sıkı metabolik eşik değerler hedefleyen 2001-NCEP ATP III tanı kriterlerinden oluşturulan yeni tanı kılavuzu Tablo 4'de görülmektedir.

Tablo 1. MetS tanı kriterleri (Dünya Sağlık Örgütü-1999)

Aşağıdakilerden en az biri:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ İnsulin direnci ✓ Bozulmuş glukoz toleransı ✓ Aşikar DM
Ve
Aşağıdakilerden en az ikisi:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hipertansiyon (kan basıncı >140/90 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak) ✓ Dislipidemi (TG düzeyi > 150 mg/dL veya HDL düzeyi erkekte < 35 mg/dL, kadında <39 mg/dL) ✓ Abdominal obezite (VKİ >30 kg/m² veya bel/kalça oranı erkekte >0.90, kadında >0.85) ✓ Mikroalbuminüri (idrar albümin atılımı >20 µg/dakika veya albümin/kreatinin oranı >30 mg/g)

Tablo 2. MetS tanı kriterleri (*National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATPIII)-2001*)

Aşağıdakilerden en az üçü:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Abdominal obezite (bel çevresi: erkeklerde > 102 cm, kadınlarda > 88 cm) ✓ Hipertrigliseridemi (≥150 mg/dL) ✓ Düşük HDL (erkeklerde < 40 mg/dL, kadınlarda < 50 mg/dL) ✓ Hipertansiyon (kan basıncı ≥ 130/85 mmHg) ✓ Hiperglisemi (açlık kan glukozu ≥ 110 mg/dL)

Tablo 3. MetS tanı kriterleri (*International Diabetes Foundation (IDF)-2005*)

Abdominal obezite (Bel çevresi: Avrupalı erkeklerde ≥ 94 cm, kadınlarda ≥ 80 cm)
Ve
Aşağıdakilerden en az ikisi:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ TG ≥ 150 mg/dL ✓ HDL: erkekte < 40 mg/dL, kadında < 50 mg/dL ✓ Kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg ✓ Açlık kan glikozu ≥ 100 mg/dL veya T2DM

Tablo 4. MetS tanı kriterleri (Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği, MetS Çalışma grubu, 2005)

Aşağıdakilerden en az biri:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ DM veya ✓ Bozulmuş glukoz toleransı veya ✓ İnsulin direnci
Ve
Aşağıdakilerden en az ikisi:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hipertansiyon (sistolik kan basıncı >130, diyastolik kan basıncı >85 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak) ✓ Dislipidemi (TG düzeyi > 150 mg/dL veya HDL düzeyi erkekte < 40 mg/dL, kadında < 50 mg/dL) ✓ Abdominal obezite [vücut kütle indeksi (VKİ) > 30 kg/m² veya bel çevresi: erkeklerde > 94 cm, kadınlarda > 80 cm]*

* Yerel veriler olmadığından IDF 2005 kılavuzunda Avrupalılar için önerilen değerler baz alınmıştır.

2.3. MetS bileşenleri

2.3.1 İnsülin direnci

Endojen veya ekzojen insüline karşı biyolojik yanıtsızlıktır. Genetik faktörler, fetal malnütrisyon, fiziksel inaktivite, obezite ve yaşlanma gibi faktörler insülin direncine neden olmaktadır. Sağlıklı popülasyonda % 25, bozulmuş glukoz toleransında % 60 ve T2DM'si

olanlarda ise % 60-75 oranında insülin direnci görülür (109). Bu direnç, normoglisemiye sağlayabilmek için hiperinsülinemiyle karşılanmaya çalışılır. İnsülin direnci genelde hiperinsülinemiyle birlikte, fakat her zaman hiperglisemiyle birlikte seyretmez. Hiperglisemi, insülin direncinin ileri evresidir. İnsülin direncinin hesaplanması için klinik pratikte en sık kullanılan yöntem HOMA (*homeostasis model assesment*) formülüdür (109). GIR (*glucose insülin ratio*) ve QUICKI (*quantitative insülin sensitivity index*) de insülin direncini değerlendirmede kullanılan diğer formüllerdir (52,58,62).

$$\text{HOMA} = [\text{Açlık insülini } (\mu\text{u/mL}) \times \text{açlık plazma glikozu } (\text{mg/dL})] / 405$$

$$\text{GIR} = \text{Açlık plazma glikozu } (\text{mg/dL}) / \text{Açlık insülini } (\mu\text{u/mL})$$

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log \text{açlık insülini } (\mu\text{u/mL}) + \log \text{açlık plazma glikozu } (\text{mg/dL})]$$

Bu indeksler için eşik (*cut off*) değerleri toplumlara göre farklılık göstermektedir (52,58,62). *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği* Türk toplumu için HOMA için eşik değerini 2.7 olarak bildirmiştir. Normal bireylerdeki HOMA değeri 2.7'den düşüktür, 2.7'nin üzerindeki değerler değişik derecelerde insülin direncini yansıtır (109).

2.3.2. Obezite

1997-1998 yılları arasında ülkemizin farklı bölgelerinde (15 il-540 merkez) "*Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans çalışması-I* (TURDEP-I)" yapılmış ve 2002 yılında yayınlanmıştır (100). Çalışmaya katılan 24788 kişinin % 22'sinde abdominal obezite tespit edilmiştir. TURDEP-II Çalışması'nın saha araştırması Ocak 2010-Haziran 2010 tarihleri arasında aynı merkezlerde tekrarlanmıştır (43). 12 yıllık süreçte kadınlarda kilo 6 kg, bel çevresi 6 cm, kalça çevresi 7 cm; erkeklerde ise kilo 8 kg, bel çevresi 7 cm, kalça çevresi 2 cm artmış olduğu bildirilmiştir. TURDEP-II'ye göre Türkiye'de obezite sıklığı % 22'den % 32'e yükselmiştir. Bu sonuç günümüzde erişkin yaşlardaki Türk toplumunun 2/3'ü kilolu veya obez olduğunu göstermektedir (43). Abdominal obezite insülin direncinin en önemli göstergesidir. Bu nedenle *Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği* her obez hastanın MetS açısından taranmasını ve visseral adipozite göstergesi olarak vücut kitle indeksi (VKİ) yerine bel çevresi ölçümü kullanılmasını önermektedir (109).

2.3.3. T2DM

Her ne kadar T2DM'si olan hastaların tümünde insülin direnci olmasa da, aşikar DM veya bozulmuş glikoz toleransı varlığı MetS'un tanı kriterlerinin ilk basamağını karşılar, ayrıca insülin direncinin olması aranmaz. Bozulmuş açlık glikozu ve bozulmuş glikoz toleransı olan kişilerde aşikar DM gelişme riski yüksektir (109). TURDEP-II çalışmasında Türk erişkin

toplumunda T2DM sıklığının % 13.7' ye ulaştığı görülmüştür. Ayrıca Türkiye'de T2DM'nin 1998 yılına göre yaklaşık olarak 5 yaş daha erken başladığı bildirilmiştir. Günümüzde 40-44 yaş grubundan itibaren nüfusun en az %10'u T2DM'lidir (TURDEP-I'de ise 45-49 yaş grubunda başlamaktaydı) (43).

2.3.4. Dislipidemi

MetS'da serum TG düzeyleri ve trigliseritçe zengin lipoproteinlerin post-prandiyal düzeyleri yükselir. LDL-kolesterol genellikle artmaz, ancak LDL-kolesterol partiküllerinin çapları küçülür (küçük-yoğun LDL). HDL-kolesterol düzeyleri ise düşük bulunur. İnsülin direnci ilerledikçe, dislipidemi tablosu daha da belirginleşmektedir. Hipertrigliseridemi ve HDL düşüklüğü kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına neden olur (92,109).

2.3.5. Karaciğer yağlanması

İnsülin direnci karaciğerde basit yağ birikiminden (hepatosteatoz), transaminaz yüksekliği (steatohepatit), hatta siroza kadar uzanabilen bir seyir izler. Obezlerin % 75'inde hepatosteatoz, % 20'sinde steatohepatit, % 2'sinde siroz gözlenir (109). Karaciğer yağlanmasının mekanizmasından daha ilerdeki bölümlerde ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

2.3.6. Hipertansiyon

Plazma insülin düzeyleri ile kan basıncı arasında doğrudan bir ilişki mevcut olduğundan, hiperinsülinemi varlığı hipertansiyona yol açmaktadır (90). İnsülinin santral sempatik aktiviteyi arttırıp, böbrekten su ve tuz tutulumunu uyarmasıyla beklenen hipertansif etkisi, normal fizyolojik koşullar altında oluşturduğu periferik vazodilatasyona bağlı hipotansif etkisiyle dengelenmektedir. İnsülin direnci varlığında ise, periferik vazodilatör etkisine de direnç geliştiği için dengelenememiş vazopressör etkisiyle hipertansiyon oluşturduğu düşünülmektedir (109). TURDEP-II raporunda ülkemizde hipertansiyon oranının önceki çalışmaya göre değişmediği (100), yaklaşık %30 civarında olduğu bildirilmiştir (43).

2.3.7. KAH

MetS erken oluşan ateroskleroz için relatif değil, "mutlak" bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. MetS'lu hastalarda KAH riskinin MetS'u olmayanlarla kıyaslandığında 2-3 kat artmaktadır (21,23). MetS kriterlerinin her biri (insülin direnci, HDL düşüklüğü, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, abdominal obezite) aslında KAH için bağımsız birer risk faktörüdür. MetS tanısı koymanın asıl amacı KAH riski yüksek kişileri belirlemektir.

Kardiyovasküler mortalite MetS'u olmayanlarda % 2.2 iken MetS'lu hastalarda bu oran % 12'dir (109).

2.3.8. Polikistik over sendromu (PKOS)

PKOS insülin direnci ile ortaya çıkan kronik anovulasyon ve hiperandrojenizmle karakterizedir. Polikistik overli hastaların yaklaşık %50-65'i obezdir, % 40 olguda bozulmuş glukoz toleransı veya aşikar DM, %35-45'inde ise insülin direnci görülür. PKOS'lu hastalarda erken yaşlarda kardiyovasküler hastalık görülme riski artmıştır (109).

2.3.9. İnflamasyon

C-reaktif protein (CRP) düzeyleri, abdominal obezite, TG yüksekliği, HDL-düşüklüğü ve hipertansiyon ve açlık glikozu gibi MetS bileşenleriyle korelasyon göstermektedir (30,96). MetS'lu vakalarda, CRP düzeyleri arttıkça kardiyovasküler risk artar. Bu akut faz cevabının, zeminde varolan bir subklinik inflamasyonu yansıttığı ve bu sürecin progresif olarak DM ve ateroskleroz gelişiminden, hatta plak rüptüründen sorumlu olduğu düşünülmektedir (109).

2.3.10. Endotel Disfonksiyonu

Vasküler endotel, normal koşullar altında birbirini dengeleyen vazodilatör (nitrik oksit) ve vazokonstriktör (anjyotensin II) faktörler salan aktif endokrin bir organdır. Vasküler endotelin bu iki fonksiyonu arasındaki dengenin kaybı endotel disfonksiyonu olarak tanımlanır. MetS'un klinik belirtileri ortaya çıkmadan önceki dönemlerde endotel disfonksiyon geliştiği gösterilmiştir (109). MetS'da mononükleer hücre adezyonu artar, plazma adezyon molekülleri ve asimetrik dimetilarginin düzeylerinde artış görülür. Endotelyal vazodilatasyon bozulur (92).

2.3.11. Hiperkoagülabilité

İnsülin direnci plazminojen aktivator inhibitör-1, koagülan sistem bileşenleri (faktör-VII, faktör-VIII ve von-Willebrand faktör) ve fibrinojen düzeylerini yükselterek KAH riskini arttırır (92,109).

2.4. MetS prevalansı

MetS bir modern yaşam hastalığıdır. Son yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve ekonomik durumdaki iyileşme batılı ülkelerde daha sedanter yaşam koşullarına ve yüksek kalori alımına neden olmaktadır. Bu durum MetS insidansının artışına ve epidemik olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri tehdit etmesine yol açmıştır (5,107). Hareketsiz ortamlarda çalışan bireyleri tehdit eden MetS'un görülme sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış göstermektedir. MetS prevalansı erişkinlerde ortalama % 22 olarak bildirilmektedir. Prevalans yaş ile artmakta, 20-29 yaş grubunda % 6.7, 60-69 yaş grubunda ise % 43.5 oranında görülmektedir. 2000 yılı itibariyle Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki 9.2 milyon kişide MetS mevcuttur ve KAH geliştiren bireylerin % 53'ü aynı zamanda MetS hastasıdır. Ülkemizde MetS görülme sıklığı, erkeklerde % 28, kadınlarda ise % 40 gibi oldukça yüksek değerlerdedir (109).

Özellikle son birkaç dekatta çok önemli ancak henüz yeterince önemsenmeyen bir diyetel değişiklik yaşamımızı etkilemektedir. Bu değişiklik, yüksek miktarda sukroz tüketimi ve yiyecek endüstrisinde çok yaygın olarak kullanılmaya başlayan bir tatlandırıcı olan yüksek früktozlu mısır şurubunun kullanılmasıdır. Son yıllardaki epidemiyolojik ve biyokimyasal çalışmalar yüksek früktoz alımının MetS gelişiminde çok önemli bir nedensel faktör olabileceğini düşündürmektedir.

2.5. MetS prevalansındaki artışın früktozla ilişkisi

Früktoz doğal olarak pek çok meyve ve sebze bulunan, glikozun epimeri olan bir monosakkarittir. Balın yaklaşık % 50'si früktozdur. Bununla birlikte, bal, meyve ve sebzeyle alınan früktoz metabolizmada herhangi bir ters etkiye yol açmaz. Bunun nedeni bal, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan antioksidanlar ve liflerdir (17,18). Günümüzde früktoz paketlenmiş hazır yiyecekler, pastane ürünleri, meyve suları/içecekler, reçeller, jöleler şeklinde çok fazla miktarlarda tüketilmektedir (37). Früktoz yiyeceklere ya sukroz (sakkaroz, % 50 glikoz- % 50 früktoz) veya yüksek früktozlu mısır şurubu (% 42-55 früktoz) halinde eklenmektedir. Yüksek früktozlu mısır şurubu hem çok tatlı, hem de ucuz olduğu için yiyecek endüstrisi tarafından çok kullanılmaktadır. Bu şekilde tatlandırılmış sadece bir kutu içecek 25 g. früktoz almaktadır (98). 1900 yılından önce Amerika'da diyetle (meyve ve sebze şeklinde) yaklaşık 15 g/gün (total kalorisinin % 4'ü) tüketilmekteydi (113). II. Dünya savaşından önce früktoz alımı 24 g/gün (total kalorisinin % 5'i) iken, 1977 yılında 37 g/gün (total kalorisinin % 7'si), 1994 yılında 55 g/gün (total kalorisinin % 10'u) olmuştur. Günümüzde

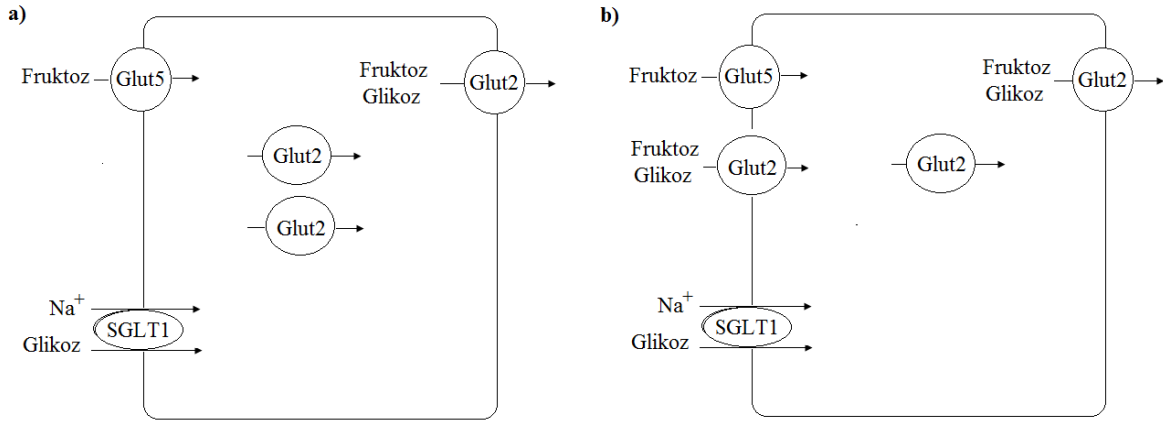
ise erişkinlerde total kalorinin % 12.1'i (72.8 g/gün), büyüme çağındaki çocuk ve gençlerde ise total kalorinin \geq % 20'si gibi rakamlara ulaşılmıştır (113).

Son 30 yılda früktoz tüketimindeki bu artış obezite ve MetS prevalansı ile yakın ilişki göstermektedir (37). 500 okul çocuğuyla yapılan bir çalışmada (37,61) şekerle tatlandırılmış içeceklerin her servis edilişinde VKİ'ni 0.25 kg/m^2 arttırdığı sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, istedikleri gibi früktozlu su/içecek tüketmelerine izin verilen fareler özellikle karaciğerdeki yağ depolarında olmak üzere yağlanmada artış göstermişlerdir (47). YFDin sıçan, hamster, köpek ve belirli fare türleri dahil olmak üzere çeşitli hayvan modellerinde insülin direncinde artışa, kilo alımına, hiperlipidemiye ve hipertansiyona neden olduğu bildirilmiştir (12,37). Früktoz C57BL/6 gibi bazı sıçan türleri hariç, test edilen bütün hayvan modellerinde insülin direncini arttırmaktadır. Sterol regülatör element-bağlayıcı protein (SREBP)-1c genindeki bazı polimorfizmlerin farklı fare türlerindeki früktoza duyarlılık farklılığına neden olabileceği bildirilmiştir (70). Sukrozla birlikte glikoz da alındığından aslında YFDle yüksek miktarda glikoz da almaktayız. Bazı araştırmacılar (97) YFDin sıçanlarda lipojenik genlerin ekspresyonunu arttırdığını, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- α (PPAR- α)-bağımlı lipit oksidasyonu genlerini baskıladığını, intrahepatik yağ birikimine ve hipertrigliseridemiye neden olduğunu bildirmiştir. Yüksek glikozlu diyet de lipojenik genlerin ekspresyonunu arttırmış ancak lipit oksidasyonu genlerini baskılamamış, karaciğer yağlanmasına ve dislipidemiye olmamıştır (97).

2.6. Früktozun emilimi ve metabolizması

2.6.1. Früktozun emilimi: Früktozun absorpsiyonu ince bağırsaklarda ve böbreğin proksimal tübüllerinde, başlıca "*kolaylaştırılmış taşıyıcılar (Glut'lar)*" aracılığı ile gerçekleşmektedir. İnce bağırsakta hem Glut2 hem de Glut5 eksprese edilir ve bunların her ikisi de früktoz taşıyabilme yeteneğine sahiptir (37,107). Şekil 1' de Glut2 ve Glut5'in enterositteki yerleşimi ve früktoz absorpsiyonundaki rolleri gösterilmiştir. Görüldüğü gibi, Glut5 gerek normal koşullarda gerekse yüksek früktoz alımında enterositlerin sadece apikal membranında yer almaktadır. Glut2 ise normal koşullarda hücre içinde ve bazal membranda bulunurken, ince barsak lümeninde hem glikoz hem de früktoz varlığında apikal membranda da bulunur (37,107). Glut2'nin en azından diyetle glikoz ve früktoz alımı arttığında majör glikoz-früktoz taşıyıcısı olduğu düşünülmektedir (107). İnce bağırsağa ek olarak, böbrekte proksimal tübüllerde (S3 segmentinde) Glut5 bol miktarda eksprese edilir. Böbrek hepatik klirensten kaçabilen früktoz moleküllerini üriner ekskresyonla elimine eder (37,107). Karaciğer früktoz

için spesifik olan Glut5 taşıyıcısına sahiptir (26). Adipositler de Glut5 mRNA ve proteinine sahip olmalarına rağmen adipoz dokuda bu taşıyıcının düzeyleri son derece düşüktür (115).

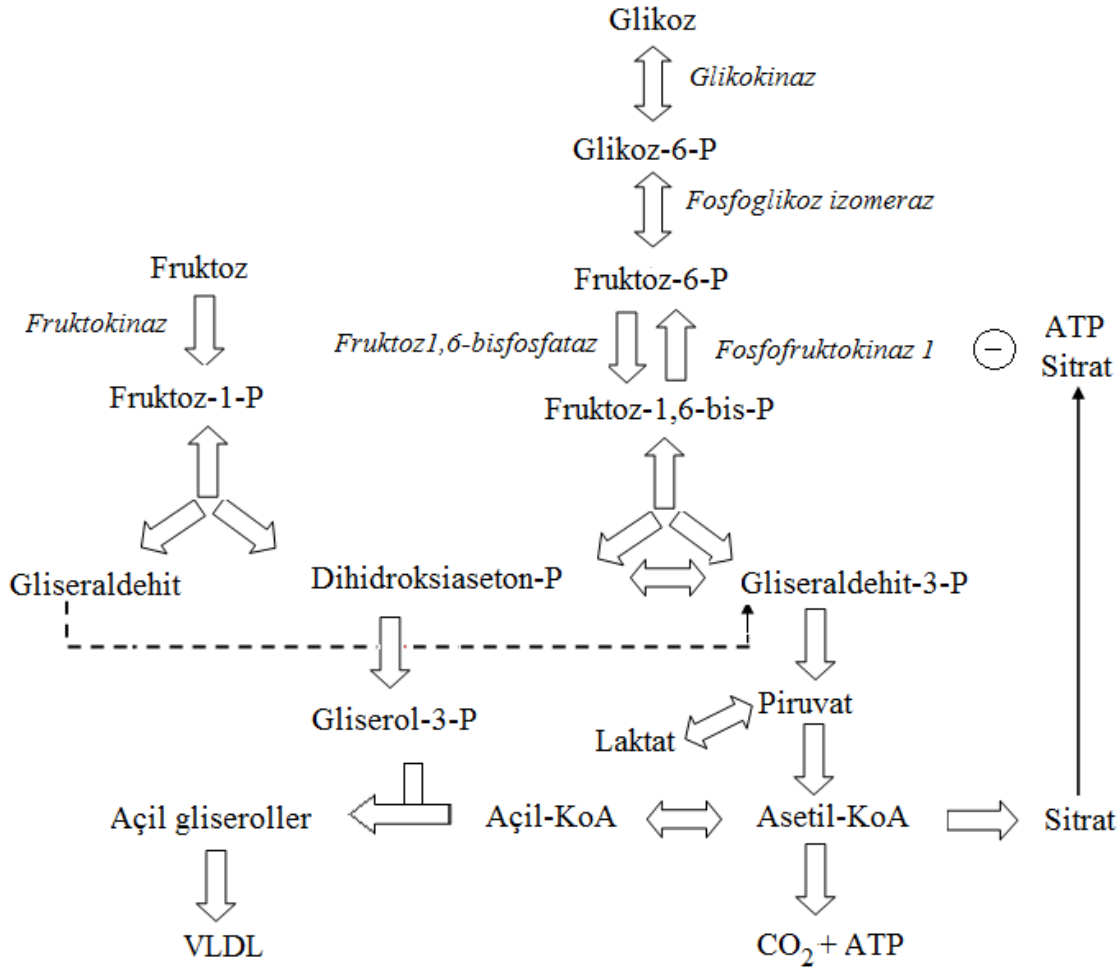


Şekil 1. Normal koşullarda (a) ve YFD ile beslenmede (b) früktozun jejunumdan absorpsiyonunda Glut2 ve Glut5'in rolü ve yerleşimi (SGLT1=sodyum glikoz taşıyıcısı 1) .

2.6.2 Früktoz metabolizması

Karaciğer, bağırsak, kas ve yağ dokusunda früktoz metabolize edilebilmektedir. Bununla birlikte, başlıca metabolizma karaciğerde gerçekleşir. Früktozun transport ve metabolizması insüline bağımlı değildir, metabolizması hızlıdır, böbrek eşik değeri düşüktür. Portal dolaşım yolu ile karaciğere ulaştırılan früktozun karaciğerdeki metabolizması Şekil 2'de görülmektedir (37). Karaciğerde früktoz *fruktokinaz* tarafından früktoz 1-fosfata çevrilir. Bu enzimin früktoza ilgisi yüksektir. Früktoz 1-fosfat daha sonra *früktoz 1-fosfat aldolaz* (*aldolaz B*) tarafından gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata çevrilir (110). Dihidroksiaseton fosfat bir *izomeraz* etkisi ile gliseraldehit-3-fosfata dönüşebildiği gibi, gliseraldehit bir *kinaz* etkisiyle de gliseraldehit-3-fosfata dönüşebilir. Daha sonra bu trioz fosfatlardan bazıları glikoneojenez yolu ile glikoza dönüşebileceği gibi, bazıları da gliserol 3-fosfat aracılığı ile TG gibi başka moleküller oluşturabilir. Früktoz 1-fosfatın glikoliz ara maddelerine dönüşümünde *hekzokinaz* ve *fosforuktokinaz 1* devre dışı kaldığı için früktoz karaciğerde glikoza oranla çok daha hızlı bir şekilde metabolize olmaktadır (110).

Karaciğer ve kas yakıt olarak öncelikle glikozu kullanmaktadır. *Hekzokinaz*'ın früktoza olan ilgisi, glikoza olan ilgisinin 1/20'si kadar olduğu için karaciğerde ve kaslarda çok az früktoz 6-fosfat oluşur. Yağ dokusu bu nedenle daha fazla früktoza maruz kalır ve bu dokuda früktoz *hekzokinaz* tarafından früktoz 6-fosfata dönüştürülerek fosforillenir (110).



Şekil 2. Früktoz ve glikozdan trigiserit sentezini düzenleyen yolların karşılaştırılması

2.7. Früktozun MetS oluşumundaki rolü

Früktozdan früktoz-1-fosfat oluşurken *fosfofruktokinaz 1* basamağı *by-pass* edildiği için früktozun karbonları bu basamağı atlayarak alt basamaklara doğru ilerler. Böylece üç karbonlu metabolitler gliserol ve yağ asidi (YA) sentez yollarına sapabilir ve esterleşerek TG oluşturabilir. Dolayısıyla yüksek miktarda früktoz alımı früktoz metabolizmasının regülasyonunun relatif eksikliğine bağlı olarak yüksek miktarda TG sentezi ile sonuçlanır (37,98). Bu TG'ler karaciğer tarafından VLDL şeklinde paketlenir. VLDL'ler kan akımı ile dolaştıkça TG'ler lipoprotein lipaz tarafından hidroliz edilir ve esterleşmemiş YA ve monoaçil gliseroller oluşur. Adipoz doku bu komponentleri dolaşımdan alır ve yeniden TG sentezler. Bu nedenle aşırı früktoz tüketimi serbest yağ asitleri düzeyinde bir artışa ve obeziteye yol açar. Adipoz dokunun başlıca görevi diyetle alınan YA'nin fazlasını alarak onları TG şeklinde depolamaktır. Açlık gibi enerji ihtiyacı olan durumlarda bu "depo TG" kullanılır. Bununla birlikte, adipoz dokunun yağ depolama kapasitesi sınırlıdır. Obezitede bu

kapasite maksimum düzeye ulaştığında, diyetle alınan YA'nin dolaşımdan toplanması yetersiz kalır ve dolaşımdaki yağ asidi düzeyleri artar. Adipozitlerdeki sinyal yollarındaki anormallikler de TG depolarında lipolizi tetikleyebilir ve YA kan akımına karışarak yağ asidi düzeylerini daha da arttırabilir (37,98). Dolaşımda yüksek miktarda esterleşmemiş YA'nin varlığının obezite ve insülin direnci arasında, T2DM ve metabolik dislipidemi arasında mekanistik anahtar bir bağlantı olduğu ileri sürülmektedir. Sonuçta bu esterleşmemiş YA karaciğer ve iskelet kası gibi non-adipoz dokular tarafından ektopik olarak alınabilir ve burada TG veya diaçil gliseroller şeklinde depolanabilir. Bu depolanma insüline yanıt gibi metabolik yollarla etkileşerek insülin direncine ve MetS'a katkıda bulunabilir (98).

Adipoz dokunun yerleşim yeri metabolizmasında da farklılığa yol açar. Visseral (abdominal) yağ depolarının insülin direnci ve MetS gelişimi açısından deri altı yağ dokusundan daha büyük bir risk taşıdığı düşünülmektedir. Bunun nedeleri, 1) *hormona duyarlı lipazın* ekspresyon ve aktivitesinin azlığına, insülin reseptöründeki tirozinin fosforilasyonunun azalmasına, insülin reseptör substratının (IRS) ekspresyonunun azalmasına, *protein tirozin-fosfat-1B*'nin aktivitesinin artmasına bağlı olarak “visseral yağ dokusunun insülinin anti-lipolitik etkilerine yanıtının azlığı”, 2) katekolaminlerin lipolizi indükleyen etkisine visseral yağ dokusunun yanıtının fazlalığı, ve 3) deri altı yağ dokusu ile kıyaslandığında YA'lerinin alımının ve açılışının azalmasıdır (95,98). Bunların hepsi kan dolaşımında esterleşmemiş YA artışı ile sonuçlanır. Ayrıca, visseral yağ dokusu esterleşmemiş YA'lerinin karaciğere direkt geçişi için portal dolaşıma girdiği yerde lokalizedir. Adipoz doku YA “*uptake*”ine ek olarak, hücre membranına Glut4'ün insüline-bağımlı olarak translokasyonu aracılığı ile dolaşımdan glikozu da alır. İnsülin direncinde bu proses de bozulur (48,98). Glut4 translokasyonunda azalma IRS-1 veya IRS-2'nin nükleer faktör kapa B (NFkB)/c-Jun amino terminal kinaz (JNK)-bağımlı serin fosforilasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak meydana gelmektedir.

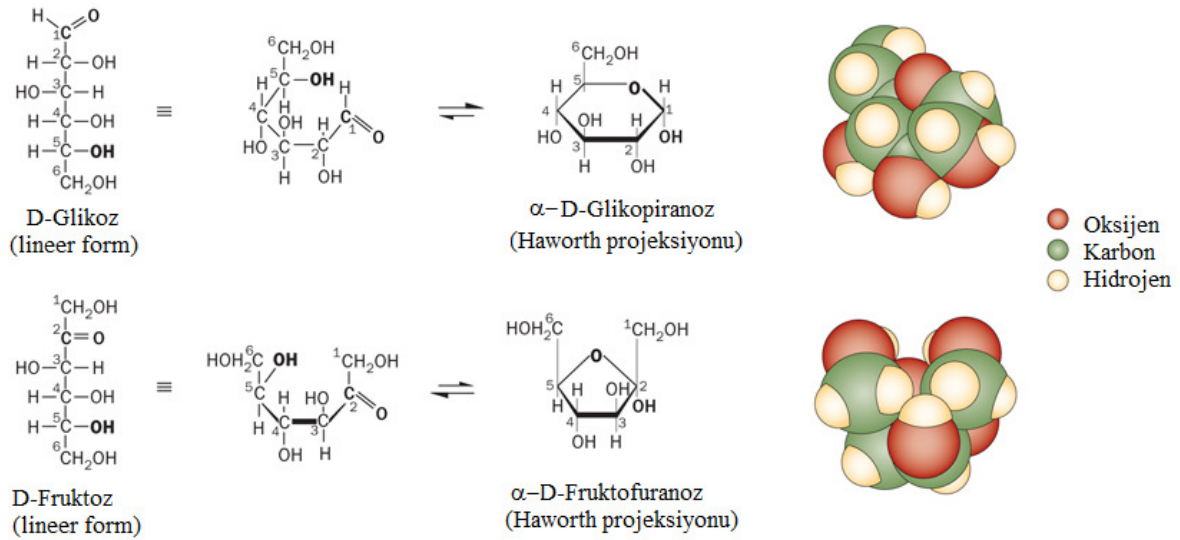
Hepatik insülin direnci, T2DM ve MetS'un önemli bir patofizyolojik özelliğidir ve insülinin lipojenik etkilerinde bir sorun yokken, hepatik glikoz üretimini baskılamasında yetersizlik olarak tanımlanmaktadır (114). Çeşitli çalışmalar hepatik insülin direncinin indüksiyonunda en az 3 majör faktörün kritik bir role sahip olduğunu düşündürmektedir: 1) Esterleşmemiş YA'lerinin karaciğere akışındaki artış, 2) früktoz gibi bir molekül tarafından hepatik inflamasyonun indüklenmesi, 3) hepatik insülin sinyal yolağındaki moleküllerin spesifik defektleri.

Früktoz *fruktokinaz* tarafından fosforillenirken fosfat donörü olarak ATP kullanır, bu da hepatik ATP depolarında deplesyona neden olur. *AMP deaminaz 1* kalan ADP'lerdeki

fosfatları da toplar ve adenin bazı atık ürünü olarak ürik asit oluşur. Ürik asit vasküler düz kaslardaki *endotelial nitrik oksit sentazı* inhibe eder ve nitrik oksit (NO) üretimi azalır, bu da hipertansiyon gelişimine yol açar (59). Şekerle tatlandırılmış içecek tüketimi ile ürik asit düzeyleri ve kan basıncı değerlerinin çocuklarda (74) ve erişkinlerde (34) pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca ürik asit inhibitörü olan allopurinolün adolesanlarda kan basıncını düşürdüğü ileri sürülmüştür (28).

2.8. Früktozdan serbest oksijen radikallerinin (ROS) üretilmesi

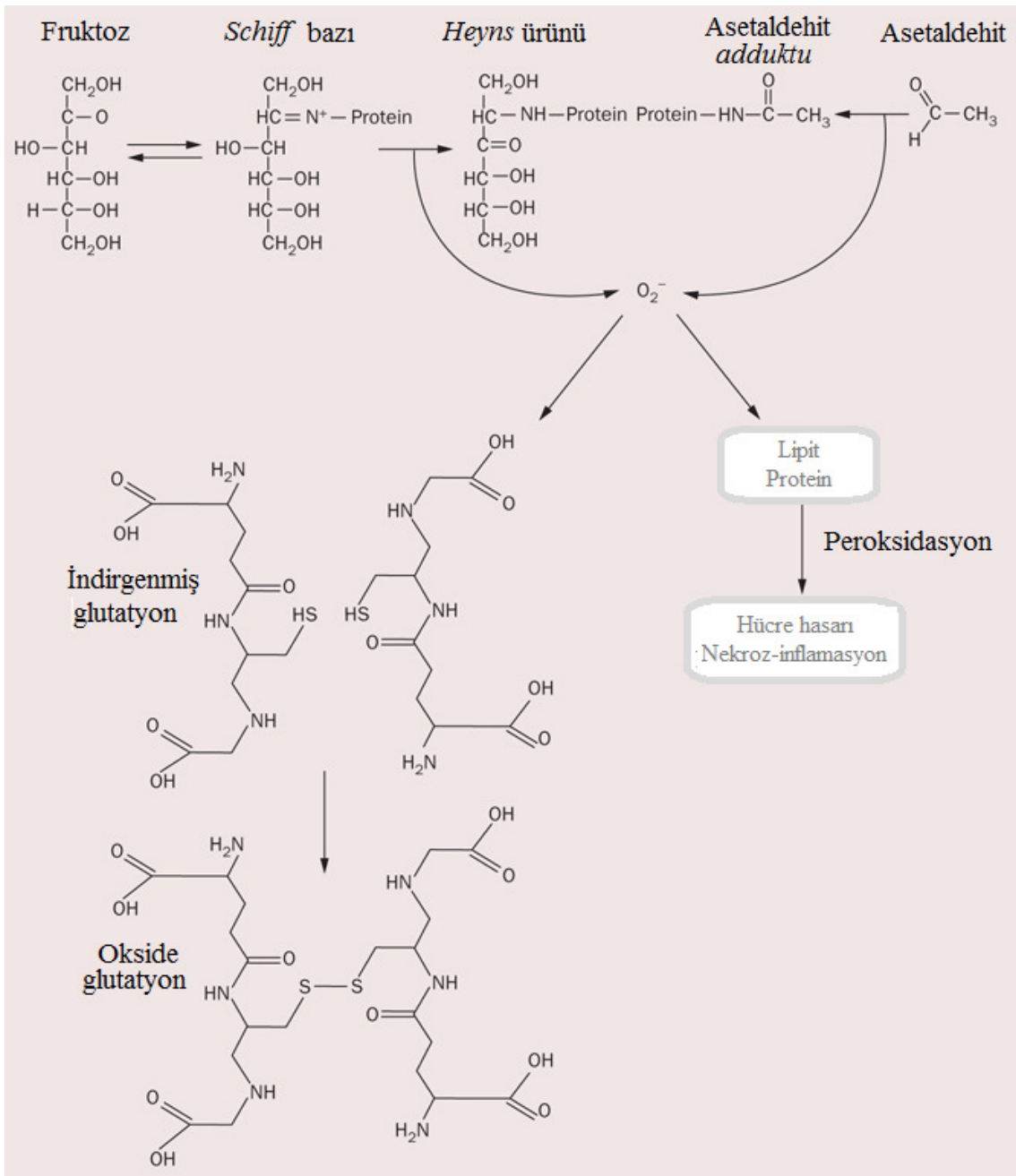
Früktoz ve glikoz moleküler yapı olarak da birbirlerinden farklıdır (Şekil 3).



Şekil 3. Glikoz ve früktozun moleküler şekilleri (59).

Glikoz iki stereoizomerik şekilde bulunur: 1) lineer aldehit şekli, 2) 6 üyeli glikopiranoz halkası. Glikozun aldehit formu lizinin ϵ -amino grubu ile oldukça reaktiftir. Bu nonenzimatik ekzotermik reaksiyon protein glikasyonu olarak adlandırılır. Bununla birlikte, 37 °C'de pH 7.4'te moleküler olarak stabil, nonreaktif, hidroksil grupları *ekvatoryal* olan glikopiranoz halkası halinde bulunur. Bu koşullarda glikozun % 80'inin halka formunda olduğu düşünülmektedir. Früktozun da iki stereoizomerik şekli vardır: 1) lineer ketal şekli, 2) 5 üyeli fruktofuranoz halkası. Früktozun halka formu iki aksiyal hidroksimetil grubuna sahiptir. Allosterik ve iyonik güçler furanoz halkasını *unstabil* olmaya ve lineer forma dönmeye zorlar. Vücut ısısı ve pH'ında früktozun % 80'inin "reaktif ketal" grubuna sahip

olan lineer formu olduğu düşünülmektedir. Bu farklılık, nonenzimatik “früktozilasyonun” neden glikasyondan 7 kat daha hızlı olduğunu açıklar (59, 101). Protein früktozilasyon reaksiyonu bir süperoksit radikali (O_2^-) serbestleşmesine neden olur (Şekil 4) (68). Früktoz glikozdan 100 kez daha fazla ROS üretir. Eğer bu radikaller antioksidanlarla ortadan kaldırılmazsa karaciğerde hasara neden olabilir (16, 59). Früktozla beslenme heksoz monofosfat yolu enzimlerinin “down” regülasyonuna ve dolayısıyla NADH ve NADPH oluşumunun azalmasına da neden olmaktadır. Früktoz katabolizmasındaki artış enerji “depleasyonu” yaratarak hücreleri peroksidasyona daha duyarlı hale getirmektedir (72).



Şekil 4. Früktozdan reaktif oksijen radikallerinin üretilmesi (59).

2.9. Serbest radikaller, prooksidan-antioksidan denge

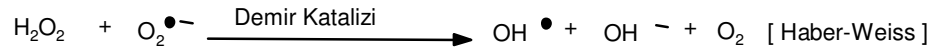
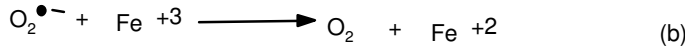
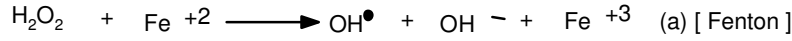
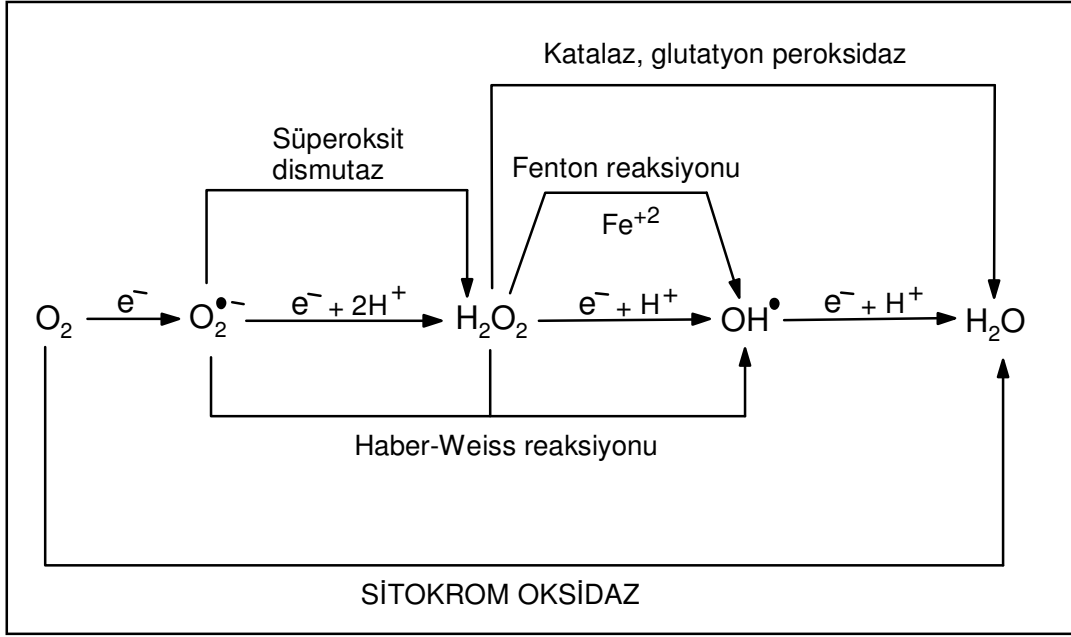
Serbest radikal reaksiyonları biyolojik sistemlerde önemli yer tutmaktadır. Serbest radikaller, dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan bileşiklerdir. Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler organizmada hem metabolizma sırasında sürekli oluşurlar, hem de radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasallar gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi sonucunda ortaya çıkabilirler (36, 111)

Serbest radikaller etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek elektron almaya çalışır ve bir an önce kararlı hale ulaşmak isterler. Organizmada oluşan radikallerin çok önemli bir bölümü oksijen kaynaklıdır. Oksijen dışında azot, karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (Tablo 5) (71,80,111,112).

Tablo 5. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	HO·	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Alkoksil	RO·	Singlet oksijen	*O ₂
Peroksil	ROO·	Ozon	O ₃
Süperoksit	O ₂ · ⁻	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	NO·	Lipit hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ ·	Peroksinitrit	ONOO ⁻

Aerobik organizmalar oksijene mutlak gereksinim gösterirler. Oksijen hücrede mitokondri fraksiyonunda bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşmekte ve bu süreçte hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %2-3 kadarı suya dönüşmemekte ve oksijen kaynaklı radikaller oluşmaktadır (Şekil 5) Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile superoksit radikali, iki elektron alarak indirgenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif hidroksil radikali oluşur. Dördüncü elektron eklenmesi ile su oluşmaktadır (71,80,111,112).



Şekil 5. Hücrenin mitokondri fraksiyonunda radikal oluşumu

Serbest radikaller organizmada mitokondrinin yanı sıra hücrelerin tüm fraksiyonlarında zara bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşmaktadır. Bunlar arasında mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi, sitoplazmada ksantin oksidaz, hücre zarına bağlı NADPH oksidaz ve lipooksijenazlar gibi enzimlerin kataliz ettiği reaksiyonlar sayılabilir (71,80,111,112).

Aktif oksijen türleri (reactive oxygen species; ROS) kararsız yapıları nedeniyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme ve onlara zarar verme özelliğindedir. Bu zarar organizmada bazı tamir sistemleri tarafından önlenmeye çalışılır. Eğer bu mekanizmalar yetersiz kalırsa, oksidatif stresin zararlı etkileri ortaya çıkar.

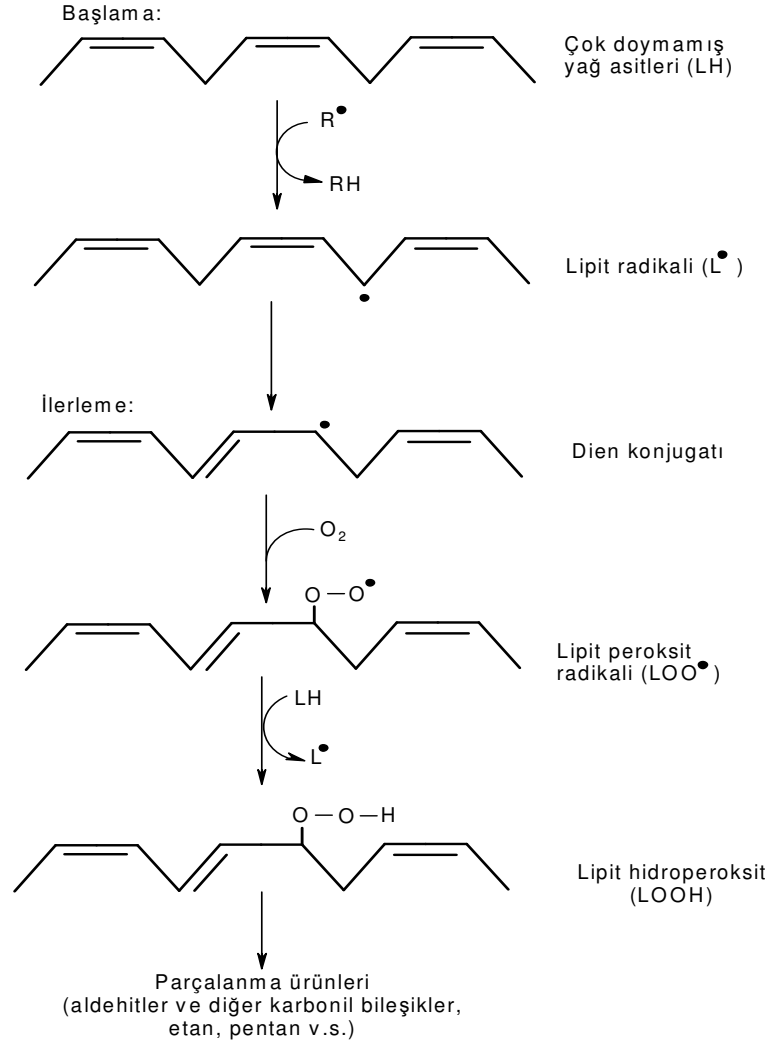
Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada güçlü bir savunma sistemi olmasına rağmen, bazı durumlarda savunma sistemi yetersiz kalmakta ve oksidatif stres gelişmektedir. Hasarın yerine bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler etkilenmektedir. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme ve onlara zarar verme özelliğindedir (36,54,71,80,111).

2.9.1.Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Serbest radikallerin lipitler üzerindeki en önemli etkileri lipit peroksidasyonunun uyarılmasıdır. Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre membranlarında bulunan çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali, lipit peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir.

Lipit peroksidasyonu çok doymamış yağ asidi (LH) zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar ve böylece yağ asidi zinciri bir radikal niteliği kazanır. Bu lipit radikali (L \cdot) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğrar. İlk önce, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatı (DK) oluşur. Bu yağ asidi radikali oksijen eklenmesiyle hızlı bir şekilde peroksil radikaline (LOO \cdot) dönüşür. Bu lipit peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer çok doymamış yağ asidi moleküllerinden hidrojen atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatır, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile lipit peroksidasyon reaksiyonları sona erer (Şekil 6).

Hücre membranlarında lipit peroksidasyonu sonucu transport sistemi etkilenir, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozular. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur. Bu olaylar hücre hasarında etkin bir rol oynar. Ayrıca lipit peroksidasyonun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik etkilere sahiptir.



Şekil 6. Lipit peroksidasyonu reaksiyonları.

2.9.2. Serbest radikallerin proteinlere etkisi

Serbest radikaller proteinler üzerinde doğrudan veya dolaylı etki gösterebilir. Peptid bağları, prolin ve lizin gibi amino asitler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenir. Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde olur. Lipit peroksidasyonun aldehit yapıdaki ürünleri, sistenin sülfidril grupları ile veya lizin ve histidinler ile kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalara yol açar. Bu olaylar proteinlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasıyla sonuçlanır.

2.9.3.Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi

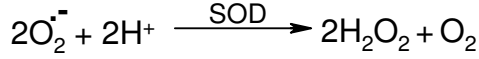
Serbest radikallerin etkisi ile DNA yapısında yapısal değişimler olur. Bu yapısal değişimler pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, zincir kırılmaları, DNA denatürasyonu gibi çeşitli olayları kapsar.

Organizmada sürekli biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı nedeniyle engellenmektedir. Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedirler. Antioksidan sistem; enzimleri, suda ve yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsamaktadır (36,111,117) (Tablo 6).

Tablo 6. Organizmada antioksidan sistem elemanları

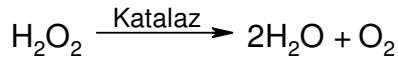
Enzimler	Suda çözünen Radikal tutucuları	Yağda çözünen radikal tutucuları	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
Süperoksit dismutaz	Glutatyon	Vitamin E	Ferritin
Katalaz	Vitamin C	β -Karoten	Transferrin
Glutatyon peroksidaz	Ürik asit	Bilirubin	Haptoglobin
Glutatyon redüktaz	Glikoz	Ubikinol	Seruloplazmin
Glutatyon transferaz	Sistein	Flavonoidler	Albumin

SOD: SOD enzimi süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar.

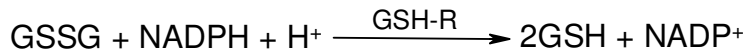
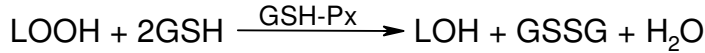


İnsanlarda SOD'un bakır ve çinko (Cu ve Zn) ve mangan (Mn) kapsayan iki izoenzimi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde, Mn-SOD mitokondride bulunur (111,117).

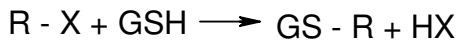
Katalaz: Tetramerik hemoprotein olan katalaz enzimi yüksek konsantrasyonda oluşan H₂O₂'i oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler. Enzim, peroksizomlarda yerleşmiştir (111,117).



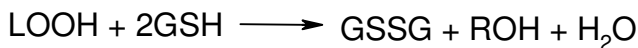
GSH-Px: GSH-Px gerek H₂O₂ ve gerekse lipid hidroperoksitleri (LOOH) metabolize etmektedir. GSH-Px'in selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız iki farklı tipi vardır. Selenyum bağımlı formu hem H₂O₂'in hem de LOOH'ların metabolizmasında yer alırken, selenyuma bağımlı olmayan tipi sadece LOOH'ları metabolize etmektedir. Bu reaksiyonlarda GSH hidrojen verici olarak görev yapmakta, H₂O₂ ve LOOH'lar indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşmektedir. Oksitlenmiş glutatyon ise NADPH'a bağımlı glutatyon redüktaz (GSH-R) tarafından tekrar GSH'a indirgenmektedir (111,117).



GST : GST dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Çok sayıda izoenzimi vardır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu kataliz ederler.



GST'lerin bazı izoenzimleri GSH-Px aktivitesi göstererek LOOH'ların metabolizmasını da da sağlarlar (111,117).



GSH: GSH hücre için en önemli antioksidan moleküldür ve serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. GSH zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi, bazı enzimlerin substratı veya kofaktörü olarak da görev yapmaktadır. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek oranda bulunur. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir ve sülfidril grupları açısından oldukça zengindir. GSH-Px, GSH-R ve GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir. Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. GSH aminoasitlerin membrandan transportunda da rol alır (111,117).

E vitamini (α -tokoferol): E vitamini yağda eriyen en kuvvetli antioksidan vitamindir ve yapısal olarak birbiri ile bağlantılı bir grup bileşiği kapsar (tokoferoller ve tokotrienoller). Bunların hepsi izoprenoid takısı içeren bileşiklerdir. Yapısında bulunan fenol halkasındaki hidroksil grubu aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır(111,117).

C vitamini (Askorbik Asit): Askorbik asit suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. İnsanlarda sentez edilmediği için diyetle alınması gerekir. C vitamini yapıca heksozlara benzer ve organizmada kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir. Superoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipit peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipitleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur. E vitamininin tekrar rejenerasyonunda görev alır, tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur (111,117).

Oksidatif stres çeşitli yöntemlerle gösterilebilir. Lipitlerdeki hasarı göstermek için genellikle lipit peroksidasyonu, protein hasarını belirlemek için protein karbonil (PK) grupları ölçümü kullanılmaktadır (36,54,111).

Nitrozatif stres ise, organizmada superoksit anyonu ile NO'nun birleşmesi ile oluşan son derece güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşumundaki artış sonucu gelişmektedir. Peroksinitrit anyonu mitokondriyal elektron transport zincirini inhibe ettiği, proteinlerin sülfidril gruplarını oksitlediği, lipit peroksidasyonunu uyardığı ve tirozin gibi sinyal iletim yollarında etkin aminoasitleri nitratladığı için sitotoksiktir (36,71,79). Normal koşullarda hücre içi SOD konsantrasyonu mikromolar, NO ise nanomolar düzeylerinde olduğundan süperoksit anyonunun başlıca inaktivasyon yolu SOD reaksiyonudur. Ancak süperoksit anyonu veya NO'in konsantrasyonlarında artış olduğunda kendi aralarındaki reaksiyon hızı

SOD ile süperoksit anyonu arasındaki reaksiyon hızına göre 6 kat fazla olduğundan peroksinitrit oluşumu artar (36,71,79).

Peroksinitritin proteinlerle olan başlıca reaksiyonu aromatik aminoasitlerin nitrasyonu reaksiyonudur. Tirozinin orto pozisyonunun nitrasyonu başlıca reaksiyondur ve sonucunda 3-nitrotirozin oluşur. Oluşan diğer ürünler 3,3-dinitrotirozin ve 3,4- dihidroksifenilalanindir. Peroksinitrit dayanıklı bir bileşik olmadığından *in vivo* peroksinitrit oluşumunun ve hasarının gösterilmesinde *stabil* bir son ürün olan nitrotirozin ölçümü sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (36,71,79).

2.10. MetS ve oksidatif stres ilişkisi

Literatürde MetS'da oksidatif ve nitrozatif stresin arttığını gösteren çeşitli klinik (51,102,104,105) ve deneysel (35,77,87 89, 93) çalışmalar mevcuttur. Bazı araştırmacılar % 60 oranında fruktozlu yemle beslenen sıçanlarda serumda (24,50) ve karaciğerde MDA (2,53,118,50,93), LOOH(50), PK (50,93) düzeylerinin arttığını, GSH, E vitamini ve C vitamini düzeyleri (50) ile SOD, katalaz, GSH-Px, GSH-R ve GST aktivitelerinin azaldığını (50,93) bulmuşlardır. YFD uygulamasının karaciğer dışı dokulardaki etkileri üzerine de bazı çalışmalar bulunmaktadır. Kalp (24,72,89), aorta (24), kas dokusu (50,87) ve böbreklerde (72,89,120) YFD ile oksidatif stresin geliştiği bildirilmektedir.

2.11. Karnozin, yapısı ve özellikleri

Karnozin (β -alanil-L-histidin), iskelet kası, beyin ve sinir gibi uzun yaşam süreli, non-mitotik hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan biyolojik olarak aktif bir dipeptiddir (14). Karnozin, karnozin sentaz enzimi ile sentezlenmektedir. İskelet kası gibi dokularda fizyolojik bir tampon olarak görev yaptığı bildirilmiştir. Ayrıca serbest radikaller ve aldehitler için "scavenger" olduğu ve proteinlerdeki oksidatif değişimleri baskıladığı bulunmuştur (4,14,38,41,69,88). Karnozinin ileri glikasyon ürünleri oluşumunu engellediği, iki değerlikli metal iyonlarıyla kompleks oluşturduğu saptanmıştır (4,14,69). Bu etkileri nedeniyle karnozinin oksidatif stresle ilişkili olan yaşlanma (38,119) Alzheimer hastalığı (41), ateroskleroz (88) ve karaciğer hasarı (7,27,65,66) gibi bazı patolojik durumların önlenmesinde etkili bir ajan olabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca bir *in vivo* çalışmada karnozin uygulamasının diyabetik farelerde bozulmuş olan prooksidan-antioksidan dengesi, hiperglisemi, hiperlipidemi ve inflamasyonu düzelttiği bulunmuştur (57). Öte yandan , karnozin E vitamini ile birlikte kullanıldığında dokulardaki birikiminin daha yoğun olduğu ve antioksidan etkinliğinin arttığı saptanmıştır (44,64)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda erkek ortalama 240 g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Çalışmada kullanılan YFD (TD.89247, % 60 *fructose diet*) ve kontrol diyeti (TD.050575, *carbohydrate control diet w/o CC*) Harlan-Teklad firmasından (Harlan Laboratories, Madison, WI, USA) sağlandı. Pellet halindeki yemlerin içeriği Tablo 7'de görülmektedir. Tezde kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich (San Diego, USA), vitamin E (Evigen, 2 ml'lik ampul, dl- α -tokoferol asetat) Aksu Farma Tıbbi Ürünler İlaç San ve Tic Ltd Şirketinden sağlandı.

Tablo 7. Çalışmada kullanılan hazır yemlerin içerikleri

İçerik (g/kg)	% 60 Früktozlu diyet	Kontrol diyeti
Kazein	207.0	207.0
DL-Metyonin	3.0	3.0
Früktoz	600	-
Mısır nişastası	-	456.0
Maltodekstrin	-	200.0
Domuz yağı	50.0	50.0
Selüloz	79.81	23.96
Mineral karışımı (Rogers-Harper 170760)	50.0	50.0
Çinko karbonat	0.04	0.04
Vitamin karışımı (Teklad 40060)	10.0	10.0
Yeşil renkli yiyecek boyası	0.15	-

3.1. Deney Grupları

Deney hayvanları 7 gruba ayrıldı ve aşağıda belirtilen biçimde beslendiler.

- ✓ **Grup 1 (Kontrol; n=6):** Sıçanlar 8 hafta süre ile normal yemle beslendi.
- ✓ **Grup 2 (Karnozin; n=6):** Sıçanlar 8 hafta süre ile normal yemle beslendi, son 4 hafta içme sularına karnozin (2 g/L) eklendi.
- ✓ **Grup 3 (Karnozin+E vitamini; n=6):** Sıçanlar 8 hafta süre ile normal yemle beslendi ve bu süre boyunca içme sularına karnozin (2 g/L) eklendi. E vitamini ise haftada 2 kez olmak üzere 200 mg/kg'a eşdeğer α - tokoferol i.m. uygulandı.
- ✓ **Grup 4 (YFD; n=8):** Sıçanlar 8 hafta süre ile % 60 oranında früktoz içeren yemle beslendi.
- ✓ **Grup 5 (YFD+Karnozin; n=8):** Sıçanlar 8 hafta süre ile früktozlu yemle beslendi ve bu süre boyunca içme sularına karnozin (2 g/L) eklendi.
- ✓ **Grup 6 (YFD+Karnozin+E vitamini; n=8):** 4 hafta süre ile % 60 oranında früktoz içeren yemle beslenen sıçanlar süre bitiminde 4 hafta süreyle normal diyetle beslenmeye alındı. E vitamini ise haftada 2 kez olmak üzere 200 mg/kg'a eşdeğer α - tokoferol i.m. uygulandı.

8 haftalık beslenme süresi bitiminde sıçanlar bir gece aç bırakıldı ve ertesi sabah sodyum pentobarbital (50 mg/kg vücut ağırlığı) anestezisi altında kalplerinden kan alınarak öldürüldü. Heparinli ve kuru tüplere alınan kanlardan 1500 x g'de santrifuj edilerek ayrılan plazmalar/serumlar glikoz, kan HbA_{1c}, insulin, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve TG düzeyleri ile alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), LDH (laktat dehidrojenaz) ve kreatin kinaz (CK) aktiviteleri tayinleri için kullanıldı. Karaciğer ve kalp dokuları hızla çıkarıldı, % 0.9 NaCl çözeltisi ile yıkandı ve sıvı azot içinde dondurularak aşağıdaki yöntemler için kullanılmaya dek -80° C'de muhafaza edildi.

3.2. Serum / kanda yapılan incelemeler

Açlık glikoz, HbA_{1c}, insülin, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve TG düzeyleri ile ALT, AST, LDH ve CK aktiviteleri ISE 1800 DPP Roche autoanalyser (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) otoanalizöründe ölçüldü. Serum insülin düzeyi ticari kit ile çalışıldı (Rat/Mouse insulin Millipore, USA) Ayrıca HOMA değerleri hesaplandı. Bunun için İnsulin x Glikoz/405 formülü kullanıldı.

3.3. Karaciğer ve kalp dokularında yapılan incelemeler

Sıçanların karaciğer ve kalp dokularında MDA, DK ve GSH düzeyleri ile SOD ve GSH-Px aktiviteleri ölçüldü. MDA ve GSH düzeyleri dokuların 0.15 M KCl'de hazırlanan %10'luk (w/v) doku homojenatlarında tayin edildi. DK düzeylerinin tayini için % 10'luk doku homojenatlarından hazırlanan lipid ekstraktları kullanıldı. Karaciğer lipid ekstresinde trigliserit ve kolesterol tayinleri de yapıldı. SOD ve GSH-Px aktiviteleri ise bu homojenatlardan kademeli santrifüj yapılarak elde edilen postmitokondri fraksiyonunda belirlendi. Ayrıca, karaciğerde Western blot yöntemi ile SOD ve GSH-Px enzimlerinin ekspresyonları incelendi.

3.3.1. Doku homojenatlarının hazırlanması ve postmitokondri fraksiyonlarının eldesi

İşlem: Karaciğer ve kalp dokuları tartıldı ve Potter-Elvehjem doku homojenizatöründe soğuk 0.15 M KCl çözeltisi ile homojenize edilerek %10'luk homojenatları (w/v) hazırlandı.

Postmitokondri fraksiyonu eldesi için, doku homojenatları öncelikle 4°C ayarlanmış soğuk santrifüjde 600 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant alınarak ependorf santrifüjünde 10000 x g'de 20 dakika santrifüj edildi, süpernatant alındı ve -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.3.2 Doku lipid ekstraktlarının hazırlanması (31) ve karaciğer lipid ekstresinde

kolesterol ve trigliserit düzeylerinin ölçülmesi:

İşlem: %10'luk doku homojenatlarından 0.25 ml alındı ve üzerine 3.75 ml kloroform:metanol (2:1) karışımı eklendi. İyi karıştırıldı, 1 saat ara sıra karıştırılarak beklendi. Daha sonra süzülerek son hacimler 4 ml'ye tamamlandı ve kapaklı tüplerde deneyler yapılincaya kadar -20° C'de saklandı.

Karaciğer lipid ekstresinde kolesterol ve trigliserit tayinleri için, hazırlanan lipid ekstresinden 2 ml alındı ve kaynar su banyosunda uçuruldu. Daha sonra lipid kalıntısı üzerine 0.4 ml etanol: dietileter (3:1) eklendi, vorteks ile iyice karıştırıldı. Bu ekstreten 0.06 ml alındı, üzerine 0.6 ml kolesterol ve trigliserit tayinleri için kullanılan kitlerdeki (Bio-science Medica, Madrid-İspanya) ayraçlardan 0.6 ml eklendi. Tüpler 37 °C'de 5 dakika tutuldu ve oluşan renk 505 nm'de spektrofotometrede okundu.. Sonuçlar µmol kolesterol/ g doku ve µmol trigliserit/g doku olarak verildi.

3.3.3 Malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesi (76):

Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA'nın TBA (tiyobarbitürik) ile oluşturduğu kompleks spektrofotometrik olarak ölçüldü.

İşlem: % 10'luk doku homojenatlarından 0.2 ml alındı. Üzerine 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik tiyobarbitürik asit ve 0.6 ml distile su eklendi. Bu karışım kaynar su banyosunda 1 saat tutuldu. Soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) karışımı eklendi, karıştırıldı ve organik faz santrifüj edilerek ayrıldı. Homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanslar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Ayıraçlar:

- ❖ % 8.1'lik sodyum dodesil sülfat
- ❖ % 20'lik asetik asit (10 N NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
- ❖ % 0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
- ❖ Butanol/piridin (15:1)
- ❖ Stok 1,1,3,3-tetraepoksiopropan (TEP) standardı: 22 mg TEP tartıldı 10 ml'ye distile su ile tamamlandı. Bu stok standardı çalışılmadan önce 1000 kez sulandırılarak 10nmol/ml'lik çalışma standardı hazırlandı.

Hesap: Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksiopropan kullanıldı. Sonuçlar pmol/mg protein olarak tanımlandı.

3.3.4. Dien konjugat (DK) düzeylerinin ölçümü (15):

İşlem: Lipit ekstratlarından 1ml alındı, azot gazı altında uçuruldu. Kuru kalıntı 2 ml sikloheksana alındı. Spektrofotometrede 233 nm'de sikloheksan körüne karşı absorbanslar okundu.

Hesap: Düzeyler 233 nm'de ekstinksiyon katsayısı $2.52 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ sayısından yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak tanımlandı.

3.3.5. Glutasyon (GSH) düzeylerinin ölçülmesi (13):

GSH düzeyleri, Elman ayırıcı (5,5'- ditiobis-2 nitro benzoik asit) kullanılarak tayin edildi. Bu ayırıcın dokulardaki serbest sülfidril (-SH) grupları tarafından indirgenmesi sonucunda, 1 mol SH grubu başına 1 mol 2-nitro-5 tiyobenzoik (DTNB) asit oluşmaktadır. Sarı renkli bu ürün spektrofotometrik olarak 412 nm'de absorbans vermektedir.

İşlem: Dokuların 0.15 M KCl'deki %10'luk homojenatlarından karaciğer için 0.5 ml, kalp için 1 ml alındı. Hacimler 0.15M KCl ile 2 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi ve bu karışım 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. 0.5 ml supernatan alınarak üzerine 2 ml 0.3 M Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayırıcı ilave edildi. Oluşan renk 412 nm'de ayıraç körüne karşı okundu.

Ayıracılar:

- ❖ Proteinsizleştirme çözeltisi: 1.67 g glasiyal metafosforik asit, 200 mg Na-EDTA ve 30 g NaCl 100 ml distile suda çözüldü.
- ❖ 0.3 M Na₂HPO₄: 42.6 g Na₂HPO₄ 1000 ml distile suda çözüldü.
- ❖ Ellman Renk Ayıracı: 4 mg 5.5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) 10 ml % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.
- ❖ GSH standardı: (0.1 mg/ml)

Hesap: GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı 13600 M⁻¹x cm⁻¹ ve standart kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar nmol GSH/mg protein olarak tanımlandı.

3.3.6 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçülmesi (67):

SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin fotooksidasyon hızını artırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisiyle hidrojen peroksite dönüşür. Hidrojen peroksit ise o-dianisidin ile reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar çok ise renkli ürün oluşumu o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürün 460 nm'de spektrofotometrik olarak saptanır.

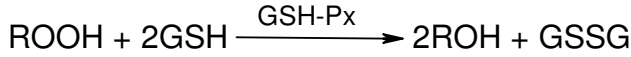
İşlem: Kör, standart ve deney tüplerine sırası ile 2.6 ml 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH:7.8), 0.1 ml o-dianisidin ilave edilir. Kör tüpüne 0.1 ml distile su; standart tüpüne 0.1 ml standart; deney tüpüne 0.05- 0.1 ml postmitokondri fraksiyonu (karaciğer 0.05 ml, kalp için 0.1 ml) eklendi ve her tüpe 30 saniye ara ile 0.2 ml riboflavin kondu, karıştırıldı ve 460 nm'deki absorbans değerleri okundu. Tüpler 20W floresans lamba içeren 37° C'ye ayarlanmış özel bir kutuya yerleştirildi ve tam 8 dakika süre ile floresans ışığa maruz bırakıldı. Sürenin bitiminde tüplerin absorbansı tekrar 460 nm'de okundu ve iki absorbans arasındaki fark alındı. Ayrıca deney körü ve standart için de aynı işlemler yapıldı.

Ayıracılar:

- ❖ 0.1 mM EDTA içeren 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH 7.8)
- ❖ 0.2 mM riboflavin: 7.3 mg riboflavin 100 ml 10 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7.5)' de çözüldü.
- ❖ 6 mM o-dianisidin: 19 mg o-dianisidin 10 ml distile suda çözüldü.
- ❖ SOD (100 IU/ml) standardı: Sigma firmasından sağlanan SOD standardı 100 IU/ml olacak şekilde soğuk distile su ile sulandırıldı. Daha sonra bu ana standarttan 0.1 ve 0.05 ml alınarak deney ortamında 10 ve 5 IU SOD standardının bulunması sağlandı.

3.3.7 Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçülmesi (56):

GSH-Px aktivite tayini iki reaksiyon ile gerçekleşir. Birinci reaksiyonda H_2O_2 veya organik hidroperoksitler (ROOH) GSH-Px etkisi ile indirgenirken, ortamdaki GSH oksitlenmiş GSH'a (GSSG) dönüşür. İkinci reaksiyonda GSSG, GSH- redüktaz (GSH-R) etkisi ile tekrar GSH'a, NADPH ise $NADP^{+}$ 'ye oksitlenmektedir. Bu dönüşüm 340 nm'de spektrofotometrede izlenir.



İşlem: GSH-Px aktivitesi, 1 ml'lik hacimde son konsantrasyonlar 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 1 mM EDTA, 1 mM sodyum azid, 0.2 mM NADPH, 1 mM GSH, 0.5 IU/ml glutatyon redüktaz, 1.2 mM kümen hidroperoksit, ve değişik oranlarda sulandırılmış post mitokondri fraksiyonu içerecek şekilde hazırlanmış ortamda tayin edildi. Bu amaçla karaciğer post mitokondri fraksiyonu 50 kez sulandırıldı ve ortama 0.05 ml konuldu. Kalp post mitokondri fraksiyonu ise 5 kez sulandırılıp ortama kalp GSH-Px tayini için 0.02 ml konuldu. Küvetler $37^{\circ}C$ 'ye ayarlanmış termostatlı spektrofotometreye yerleştirildi ve 1'er dakika arayla spektrofotometrede 340nm'de absorbans değişimi izlendi. Ayrıca post mitokondri fraksiyonu içermeyen ortamda da reaksiyon izlenerek enzimatik olmayan değişim kayıt edildi (kör deney).

Hesap: Sonuçlar NADPH'in ekstinksiyon katsayısı olan $6.22 \times 10^3 M^{-1} \times cm^{-1}$ 'den yararlanılarak hesaplandı sonuçlar nmol NADPH/mg protein/dakika olarak belirtildi.

3.3.8. Protein tayini (106):

Doku homojenatlarında ve postmitokondri fraksiyonlarında protein miktarı bişikoninik asit metodu ile belirlendi.

İşlem: 200 μ l protein renklendirici ayırıcı üzerine sulandırılmış karaciğer veya kalp homojenatlarından veya post mitokondri fraksiyonlarından 10 μ l ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra $37^{\circ}C$ 'de 30 dakika beklendi. Oda ısısında soğutuldu ve oluşan rengin absorbansı 562 nm'de ELİSA'da okundu.

Ayrıçlar:

- ❖ Bişikoninik asit (Bicinchoninic acid solution=Sigma B 9643)
- ❖ %4 $CuSO_4$

- ❖ Protein renklendirme ayıracı: 10 ml bişiklinik asit çözeltisi üzerine 0.2 ml %4 Cu SO₄ ekleyerek hazırlandı.

3.3.9. Western Blot Yöntemi ile GSH-Px ve SOD enzimlerinin ekspresyonu (9, 55):

Sıvı azotta dondurularak çalışma gününe dek – 80 °C’de saklanan doku örnekleri 50 mM Tris-HCl, % 1 Ipegal 630, 150 mM NaCl, % 0.5 Sodyum Deoksikolat, % 0.1 SDS, PMSF, Aprotinin, Leupeptin, ve SBTI içeren tamponda el homojenizatörü (Tissue Ruptor-Qiagen Sample and Assay Technologies) ile homojenize edilerek % 10’luk doku homojenatları hazırlandı. Homojenatlar + 4 °C’de 13.000xg’de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı. Süpernatantlar alınarak bişiklinik asit yöntemi ile protein tayini yapıldı. % 12’lik SDS-poliakrilamid jeller hazırlandı ve süpernatantlar sulandırıldıktan sonra Laemli tamponu ile karıştırılarak 50 µg protein/kuyucuk olacak şekilde yüklendi (59). 100 voltta (30 mA) yaklaşık 1.4 saat elektroforez yapıldıktan sonra jeller çıkarılarak Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrana (Millipore Corporation) proteinler transfer edildi (97). PVDF membran, % 3 yağsız süt tozu içeren (non fat dry milk), % 0.05 Tween 20 içeren phosphate buffer saline (PBS-T) ile bir saat bloke edildikten sonra membranlar anti-CuZn SOD (sc-11407) ve ya anti-GSH-Px (sc-30147) (ayrı ayrı) ‘rabbit poliklonal’ antikorlarıyla tüm gece + 4 °C’de inkübe edildi (Santa Cruz Biotechnology, 1:1000). Membranlar PBS-T ile yıkandıktan sonra n’goat anti-rabbit’ sekonder antikor (Santa Cruz Biotechnology, sc-2004) ile (HRP-conjugated IgG) 1 saat inkübe edildi (1:2000). İnkübasyon sonunda membranlar 3x10 dk PBS-T ile yıkandı. Daha sonra kemilüminesans kiti (western blotting luminol reagent, Santa Cruz Bioctechonology, sc-2048) ile ışımaya yaptırıldı ve röntgen filmi işaretlemesi için 20 dk bekletildi. Oluşan bantlar görüntülenerek bilgisayar sistemine aktarıldıktan sonra miktar tayini yapıldı. (Vilber-Lurmart Biotechnology). İnternal standart olarak aktin kullanıldı. Membranlar %2.5 SDS içeren 25 mM Glisin tamponu (pH: 2.5) ile 2x 15 dakika inkübe edilerek soyuldu, anti-aktin rabbit poliklonal antikor (Santa Cruz Biotechnology, sc-1616-R) ile işaretlendi ve her bir örneğin aktin miktarı tayin edilerek tüm örnekler aktin ile standardize edildi.

3.3.10. Histopatolojik incelemeler

Histopatolojik inceleme için % 0.9 NaCl ile yıkanan kalp ve karaciğer örnekleri % 10’luk tamponlanmış formalin çözeltisinde saklandı ve hematoksilin eosin (H&E) boyası ile boyandı (ışık mikroskobu, x200 veya x400).

3.3.11. İstatistik incelemeler

Sonuçlar ortalama ± SD olarak verildi ve istatistik değerlendirmeler için Kruskal-Wallis (post hoc Mann-Whitney U) testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlarda 2 aylık dönem sonunda kilo artışlarının kontrol, karnozin ve karnozin+ E vitamini gruplarında sırasıyla %20.1, %19.8 ve % 19.9 olarak, YFD, YFD+karnozin ve YFD+karnozin+E vitamini gruplarında ise sırasıyla %28.2, %25.4 ve % 23.6 olarak hesaplandı. Buna göre, YFD ile beslenen grupta kilo artışının kontrol gruplarına göre anlamlı artış gösterdiği, buna karşılık, YFD+karnozin ve YFD+karnozin+E vitamini gruplarında anlamlı artış olmadığı saptandı.

Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının YFD ile beslenen sıçanlarda kan HbA_{1c}, serum glikoz, TG, kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol düzeyleri ile ALT, AST, LDH ve CK aktiviteleri üzerine etkileri Tablo 8-10'da gösterildi. Buna göre;

a) YFD sıçanlarda serum glikoz (% 39.5) ve serum insülin (%17.0) düzeylerinde, HOMA değerlerinde (%63,9), kan HbA_{1c} (% 8.7) ve serum TG (% 50.6) düzeylerinde anlamlı artışlar oluşturdu. Serum kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

b)YFD ile beslenen sıçanlara karnozin ve karnozin + E vitamini uygulandığında serum glikoz, kan HbA_{1c} ve serum TG, kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Buna karşılık YFD + karnozin grubundaki sıçanlarda serum insülin düzeyleri ile HOMA değerlerinde, YFD grubuna göre anlamlı bir değişiklik bulunmazken, YFD+Kar+E grubunda insülin düzeyleri ile HOMA değerlerinde sırasıyla %13.4 ve %14.0 oranlarında anlamlı azalmalar saptandı(Tablo 8,9).

c)YFD, serum ALT (% 29.2), AST (% 28.9), LDH (% 20.7) ve CK (% 38.6) aktivitelerinde anlamlı bir artış oluşturdu. YFD'ye ek olarak sıçanlara karnozin uygulandığında artmış olan AST, LDH ve CK aktivitelerinde, YFD grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu halde, serum ALT aktivitesinde bir değişiklik bulunmadı. AST, LDH ve CK aktivitelerindeki bu azalmalar sırasıyla % 43.8, %59.1 ve % 50.1 olarak hesaplandı (Tablo 10).

d)YFD'ye ek olarak sıçanlara karnozin+E vitamini uygulandığında AST, LDH ve CK'nın yanı sıra ALT aktivitesinde de, YFD grubuna göre anlamlı bir azalma bulundu. ALT, AST, LDH ve CK aktivitelerindeki bu azalmalar sırasıyla % 39.8, % 31.3, % 35.2 ve % 22.2 olarak hesaplandı (Tablo 10).

e) Normal sıçanlara karnozin ve karnozin + E vitamini uygulandığında yukarıda belirtilen göstergelerde -karnozin grubunda LDH aktivitesinde görülen anlamlı azalma dışında- bir değişiklik saptanmadı (Tablo 8-10).

Çalışmamızda karnozin ve karnozin +E vitamini uygulamasının YFD ile beslenen sıçanlarda karaciğer MDA ve DK düzeyleri ile GSH düzeyleri, SOD ve GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi Tablo 11,12 ve Şekil 7-13'de gösterildi. Buna göre;

a) YFD ile beslenme karaciğer MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı halde, DK (% 28.7) düzeylerinde anlamlı bir artışa neden oldu.YFD grubunda karaciğer kolesterol düzeylerinde anlamlı bir artış olmadığı halde trigliserit düzeylerinde %25 oranında anlamlı bir artış saptandı. YFD ile beslenen sıçanlarda karaciğer GSH düzeyleri ile SOD aktivitesi değişmedi. Buna karşılık GSH-Px (% 20.6) aktivitesinde anlamlı bir azalma bulundu.

b) YFD ile beslenen sıçanlara karnozin uygulaması MDA, DK , GSH düzeyleri, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde ve kolesterol düzeylerinde bir değişiklik oluşturmadı buna karşılık karaciğer trigliserit düzeylerinde %15.6 oranında anlamlı bir azalma saptandı.

c) YFD ile beslenen sıçanlara karnozin+E vitamini uygulandığında, YFD grubunda artmış olan DK düzeylerinde % 33.1 oranında anlamlı bir azalma, azalmış olan GSH-Px aktivitesinde ise % 33.0 oranında anlamlı bir artma bulundu. Karaciğer MDA ve GSH düzeyleri ile SOD aktivitesinde ise YFD ve YFD+karnozin+E vitamini grupları arasında anlamlı bir fark oluşmadı. YFD + Karnozin + E vitamini uygulanan sıçanlar YFD grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer kolesterol düzeyleri değişmediği halde, trigliserit düzeylerinde % 36.5 oranında bir azalma saptandı.

d) SOD ve GSH-Px enzim ekspresyonları incelendiğinde; SOD ekspresyonunda gruplar arasında bir değişiklik bulunmadı (Şekil 12). GSH-Px ekspresyonu ise YFD grubundaki sıçanlarda anlamlı bir azalma gösterdi. YFD ile beslenen sıçanlarda karnozin tek başına azalmış GSH-Px ekspresyonunu etkilemediği halde, Kar+ E vitamini ekspresyonunda artışa neden oldu (Şekil 13).

Çalışmamızda karnozin ve karnozin +E vitamini uygulamasının YFD ile beslenen sıçanlarda kalpte MDA, DK ve GSH düzeyleri ile SOD ve GSH-Px aktiviteleri üzerine etkisi Tablo 13,14 ve Şekil 7-11'de gösterildi. Buna göre kalp dokusunda MDA, DK ve GSH düzeyleri ile SOD ve GSH-Px aktivitelerinin YFD grubunda kontrol grubuna göre bir farklılık göstermediği, YFD, YFD+karnozin ve YFD+karnozin+E vitamini grupları arasında da anlamlı bir fark olmadığı saptandı .

Karaciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde;

- a) Kontrol, karnozin ve karnozin+E vitamini gruplarında normal karaciğer dokusu yapısı görüldü (Resim 1-3).
- b) YFD grubunda makro ve mikroveziküler yağlanma saptandı (Resim 4).
- c) YFD+karnozin grubunda karaciğerde yağlanmanın YFD grubuna göre daha azaldığı (Resim 5), YFD+karnozin+E vitamini grubunda ise karaciğer yağlanmasında daha belirgin bir iyileşme olduğu bulundu (Resim 6).

Kalp dokusunun histopatolojik incelemesinde ise tüm gruplarda normal kalp yapısı gözlemlendi (Bulgular gösterilmedi).

Tablo 8. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanlarda serum glikoz ve kan HbA_{1c} düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD)

	Glikoz (mg/dL)	İnsülin (ng/mL)	HOMA	HbA_{1c} (%)
Kontrol (n=6)	101.2 \pm 11.7 ^a	7.34 \pm 0.38 ^a	1.83 \pm 0.23 ^a	3.33 \pm 0.08 ^a
KAR (n=6)	97.7 \pm 4.03 ^a	7.05 \pm 0.47 ^a	1.70 \pm 0.14 ^a	3.31 \pm 0.09 ^a
KAR + E (n=6)	100.3 \pm 6.83 ^a	7.06 \pm 0.44 ^a	1.74 \pm 0.78 ^a	3.38 \pm 0.13 ^a
YFD (n=8)	141.2 \pm 34.5 ^b	8.59 \pm 1.19 ^b	3.00 \pm 0.89 ^{bc}	3.62 \pm 0.7 ^b
YFD + KAR (n=8)	144.0 \pm 22.7 ^b	8.62 \pm 0.62 ^b	3.05 \pm 0.47 ^c	3.32 \pm 0.08 ^a
YFD + KAR +E (n=8)	140.3 \pm 20.3 ^b	7.44 \pm 0.73 ^a	2.58 \pm 0.48 ^b	3.38 \pm 0.08 ^a

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

Tablo 9. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanlarda serum trigliserit (TG), total kolesterol (Kol), LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerine üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

	TG (mg/dL)	Kol (mg/dL)	LDL-Kol (mg/dL)	HDL- Kol (mg/dL)
Kontrol (n=6)	85.3 \pm 21.8 ^a	61.2 \pm 6.61 ^a	7.83 \pm 2.31 ^a	37.2 \pm 5.52 ^a
KAR (n=6)	93.5 \pm 19.3 ^a	59.2 \pm 3.54 ^a	10.50 \pm 3.39 ^a	35.0 \pm 7.42 ^a
KAR+E (n=6)	82.2 \pm 24.2 ^a	60.6 \pm 5.60 ^a	10.20 \pm 2.78 ^a	35.8 \pm 4.62 ^a
YFD (n=8)	128.5 \pm 25.5 ^b	62.3 \pm 5.57 ^a	10.50 \pm 2.07 ^a	36.5 \pm 5.20 ^a
YFD+KAR (n=8)	119.0 \pm 35.4 ^{ab}	64.0 \pm 12.5 ^a	9.87 \pm 2.85 ^a	38.9 \pm 8.96 ^a
YFD+KAR+E (n=8)	117.3 \pm 37.8 ^{ab}	68.6 \pm 13.6 ^a	9.87 \pm 3.56 ^a	39.8 \pm 11.54 ^a

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

Tablo 10. Karnozin (KAR) ve karnozin+E (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanlarda serum alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) aktiviteleri üzerine tek başına ve E vitamini ile birlikte karnozin uygulamasının etkisi (Ort. \pm SD)

	ALT (U/L)	AST (U/L)	LDH (U/L)	CK (U/L)
Kontrol (n=6)	47.3 \pm 3.50 ^a	155.3 \pm 20.3 ^a	2773.7 \pm 250.8 ^a	982.8 \pm 199.1 ^a
KAR (n=6)	43.6 \pm 5.24 ^a	151.6 \pm 17.3 ^a	2412.7 \pm 217.7 ^b	982.8 \pm 124.8 ^a
KAR + E (n=6)	45.5 \pm 3.83 ^a	148.6 \pm 12.5 ^a	2532.8 \pm 149.1 ^{ab}	964.2 \pm 113.8 ^a
YFD (n=8)	61.1 \pm 12.85 ^b	200.3 \pm 49.7 ^b	3347.0 \pm 646.9 ^c	1362.4 \pm 392.4 ^b
YFD+KAR (n:8)	57.7 \pm 21.20 ^{ab}	112.5 \pm 28.1 ^c	1369.3 \pm 619.8 ^d	679.9 \pm 289.3 ^{ac}
YFD+KAR+E (n=8)	36.8 \pm 5.43 ^c	137.6 \pm 55.6 ^{ac}	1796.8 \pm 643.5 ^d	764.6 \pm 258.4 ^{ac}

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Tablo 11. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanların karaciğerinde malondialdehit (MDA) ve dien konjugat (DK), trigliserit (TG) ve kolesterol (Kol) düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

	MDA (pmol/mg protein)	DK (μ mol/g)	TG (μ mol/g)	Kol (μ mol/g)
Kontrol (n=6)	684.4 \pm 84.2 ^a	0.87 \pm 0.13 ^a	5.48 \pm 0.12 ^a	3.90 \pm 0.42 ^a
KAR (n=6)	685.0 \pm 56.7 ^a	0.91 \pm 0.08 ^a	5.33 \pm 0.82 ^a	3.91 \pm 0.29 ^a
KAR + E (n=6)	723.0 \pm 43.3 ^a	0.86 \pm 0.10 ^a	5.44 \pm 0.56 ^a	3.78 \pm 0.35 ^a
YFD (n=8)	715.2 \pm 46.4 ^a	1.12 \pm 0.25 ^b	6.85 \pm 0.58 ^b	3.75 \pm 0.54 ^a
YFD + KAR (n=8)	633.0 \pm 95.1 ^{ab}	1.15 \pm 0.24 ^b	5.78 \pm 0.58 ^a	3.90 \pm 0.55 ^a
YFD + KAR +E (n=8)	614.3 \pm 36.7 ^b	0.75 \pm 0.14 ^c	4.35 \pm 0.84 ^c	3.91 \pm 0.38 ^a

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Tablo 12. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanların karaciğerinde glutatyon (GSH) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

	GSH (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (nmol/dak/mg protein)
Kontrol (n=6)	33.0 \pm 1.30 ^a	26,0 \pm 4.19 ^a	714.7 \pm 86.8 ^a
KAR (n=6)	33.8 \pm 3.86 ^a	23,8 \pm 2.18 ^a	698.6 \pm 81.6 ^a
KAR + E (n=6)	31.3 \pm 1.75 ^a	25.5 \pm 3.72 ^a	724.7 \pm 59.4 ^a
YFD (n=8)	36.2 \pm 4.40 ^a	23.1 \pm 3.40 ^a	567.6 \pm 160.9 ^b
YFD + KAR (n=8)	38.6 \pm 5.66 ^a	21.4 \pm 4.29 ^a	611.5 \pm 114.3 ^b
YFD + KAR +E (n=8)	34.8 \pm 7.14 ^a	26.5 \pm 8.22 ^a	754.7 \pm 91.3 ^a

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

Tablo 13. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanların kalp dokularında malondialdehit (MDA) ve dien konjugat (DK) düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

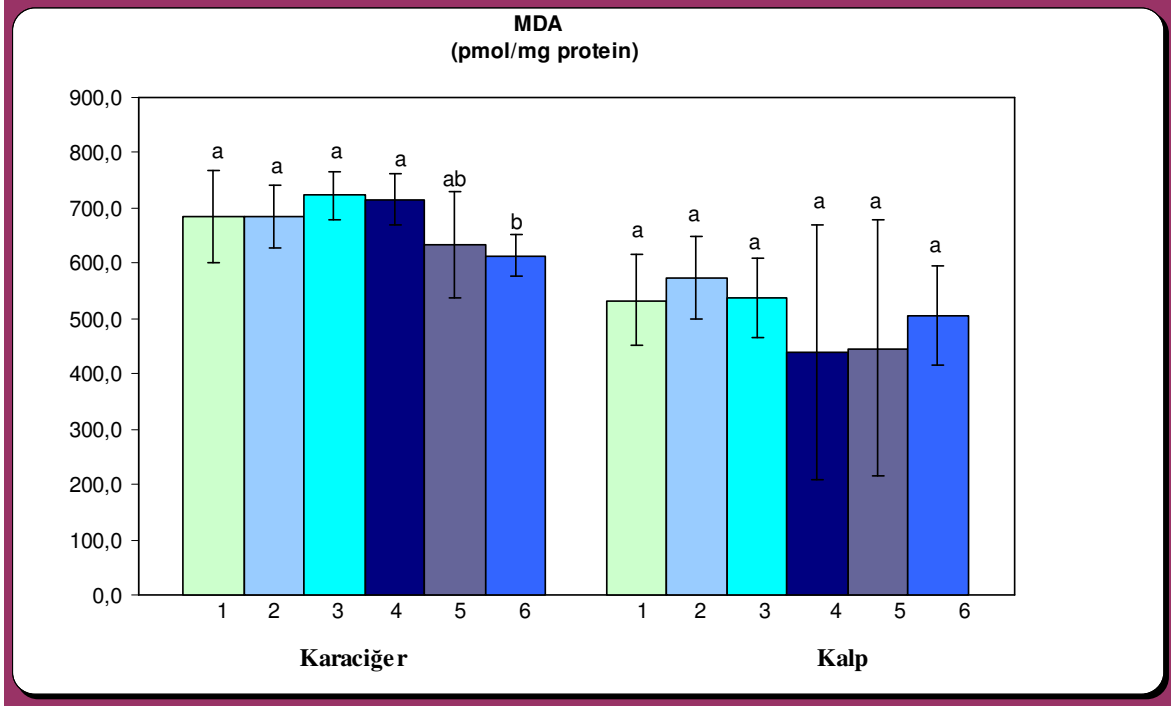
	MDA (pmol/mg protein)	DK (μ mol/g)
Kontrol (n=6)	533,6 \pm 83.2 ^a	1.16 \pm 0.25 ^a
KAR (n=6)	574.0 \pm 74.0 ^a	1.08 \pm 0.07 ^a
KAR + E (n=6)	538.3 \pm 71.7 ^a	1.25 \pm 0.10 ^a
YFD (n=8)	438.7 \pm 230.2 ^a	1.18 \pm 0.21 ^a
YFD + KAR (n=8)	446.4.0 \pm 232.0 ^a	1.62 \pm 1.08 ^a
YFD + KAR +E (n=8)	504.7 \pm 89.2 ^a	1.10 \pm 0.09 ^a

Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

Tablo 14. Karnozin (KAR) ve karnozin+E vitamini (KAR + E) uygulamasının yüksek früktozlu diyet (YFD) ile beslenen sıçanların kalp dokularında glutatyon (GSH) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

	GSH (nmol/mg protein)	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (nmol/dak/mg protein)	Aynı harf i payl
Kontrol (n=6)	18.1 \pm 1.94 ^a	11.4 \pm 1.03 ^a	216.9 \pm 30.6 ^a	aşm
KAR (n=6)	19.0 \pm 3.51 ^a	10.4 \pm 1.53 ^a	217.0 \pm 52.8 ^a	aya
KAR + E (n=6)	18,6 \pm 1.19 ^a	10.5 \pm 0.93 ^a	203.3 \pm 41.4 ^a	n
YFD (n=8)	14.1 \pm 6.43 ^a	12.9 \pm 2.63 ^a	205.6 \pm 48.9 ^a	değ
YFD + KAR (n=8)	13.6 \pm 6.30 ^a	11.2 \pm 1.53 ^a	222.0 \pm 31.2 ^a	rlar
YFD + KAR +E (n=8)	19.8 \pm 5.42 ^a	12.2 \pm 1.72 ^a	217.8 \pm 40.9 ^a	istat
				istik
				sel
				olar

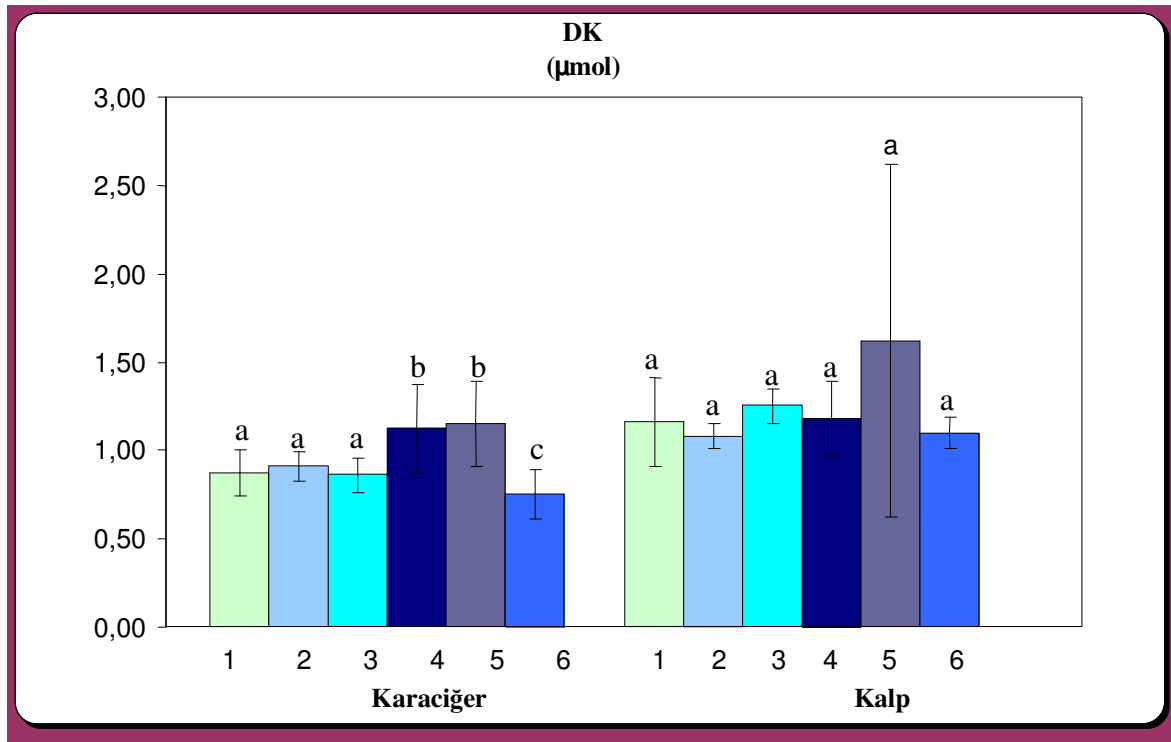
ak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 7. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer ve kalp dokusunda malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

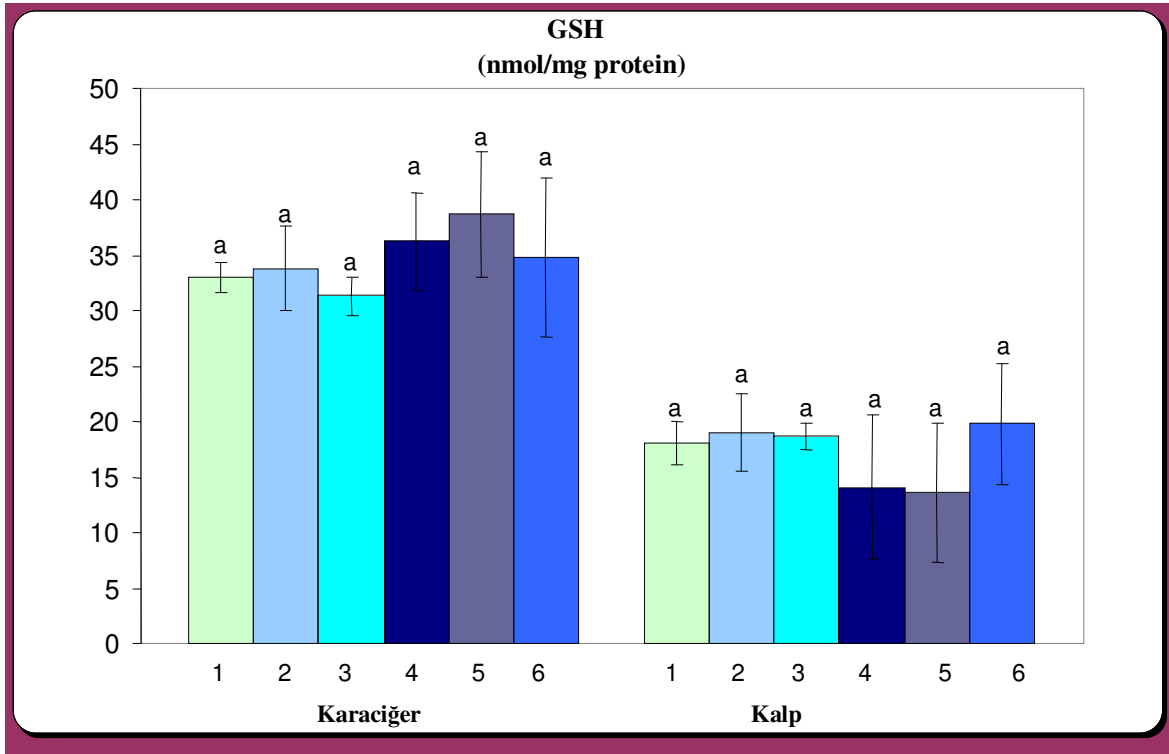
Kontrol grubu (1); Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)



Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)

Şekil 8. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer ve kalp dokusunda dien konjugatı (DK) düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

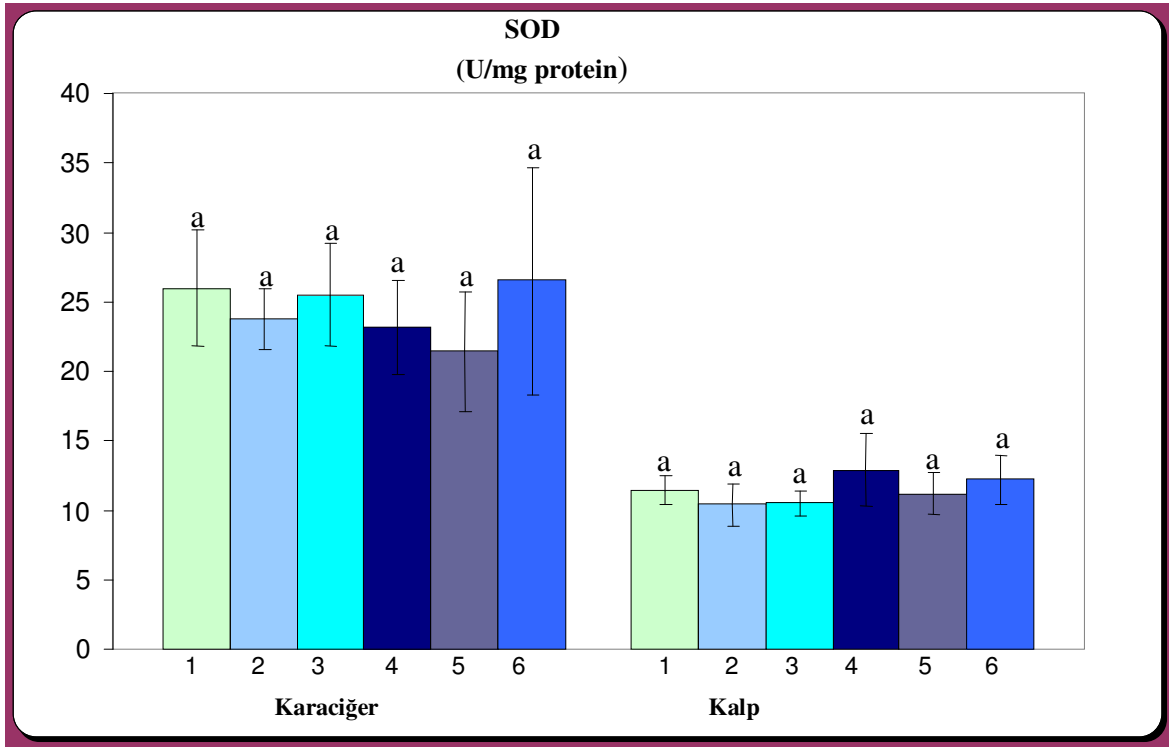
Kontrol grubu (1); Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)



Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 9. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer ve kalp dokusunda glutatyon (GSH) düzeyleri üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

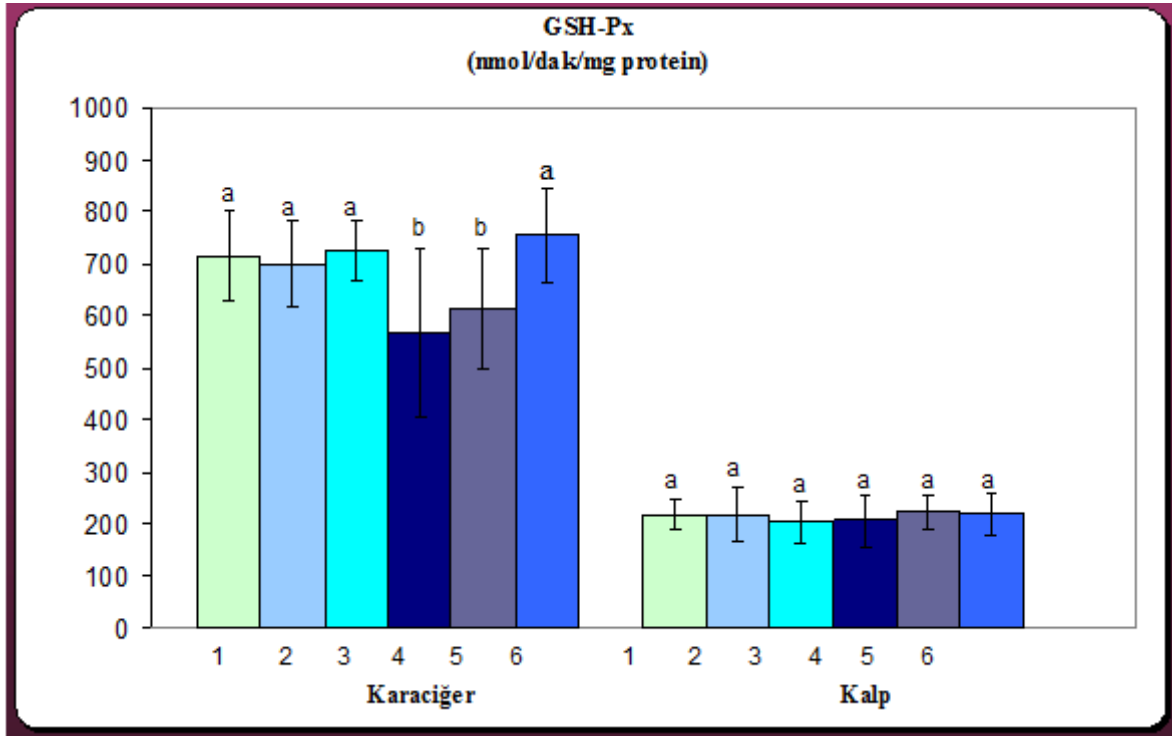
Kontrol grubu (1) ; Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)



Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 10. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer ve kalp dokusunda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

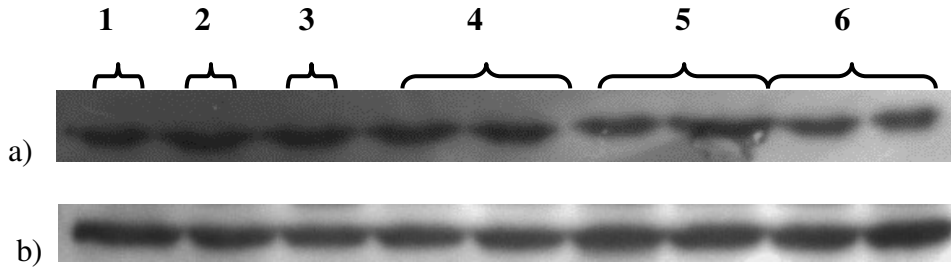
Kontrol grubu (1) ; Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)



Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 11. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer ve kalp dokusunda glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

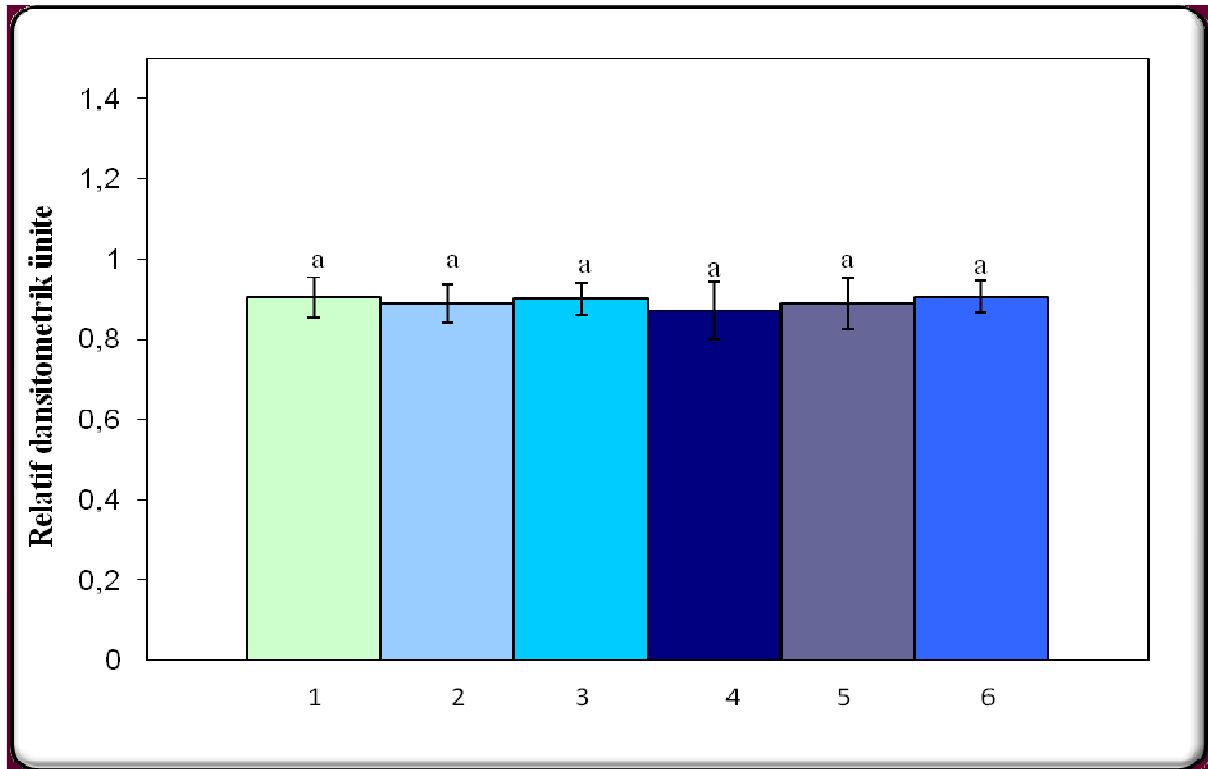
Kontrol grubu (1); Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)

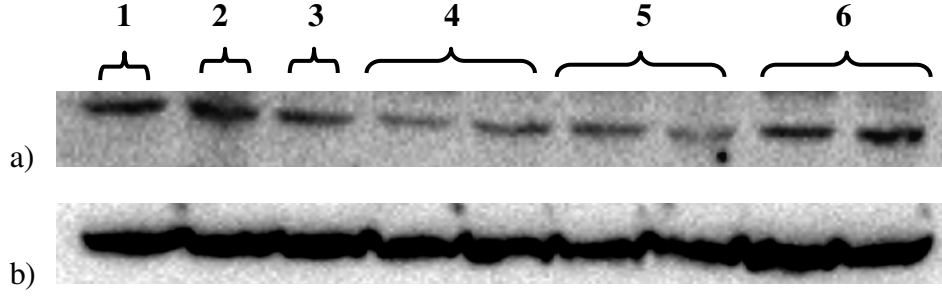


Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 12. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) ekspresyonu üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

Kontrol grubu (1); Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)

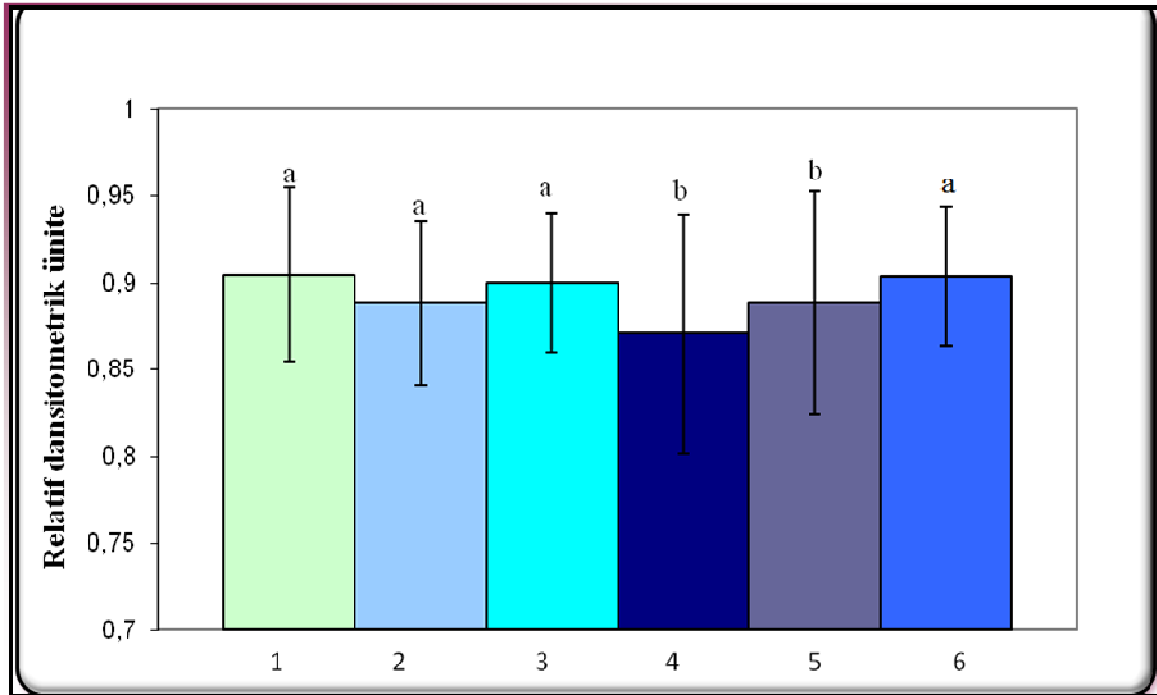


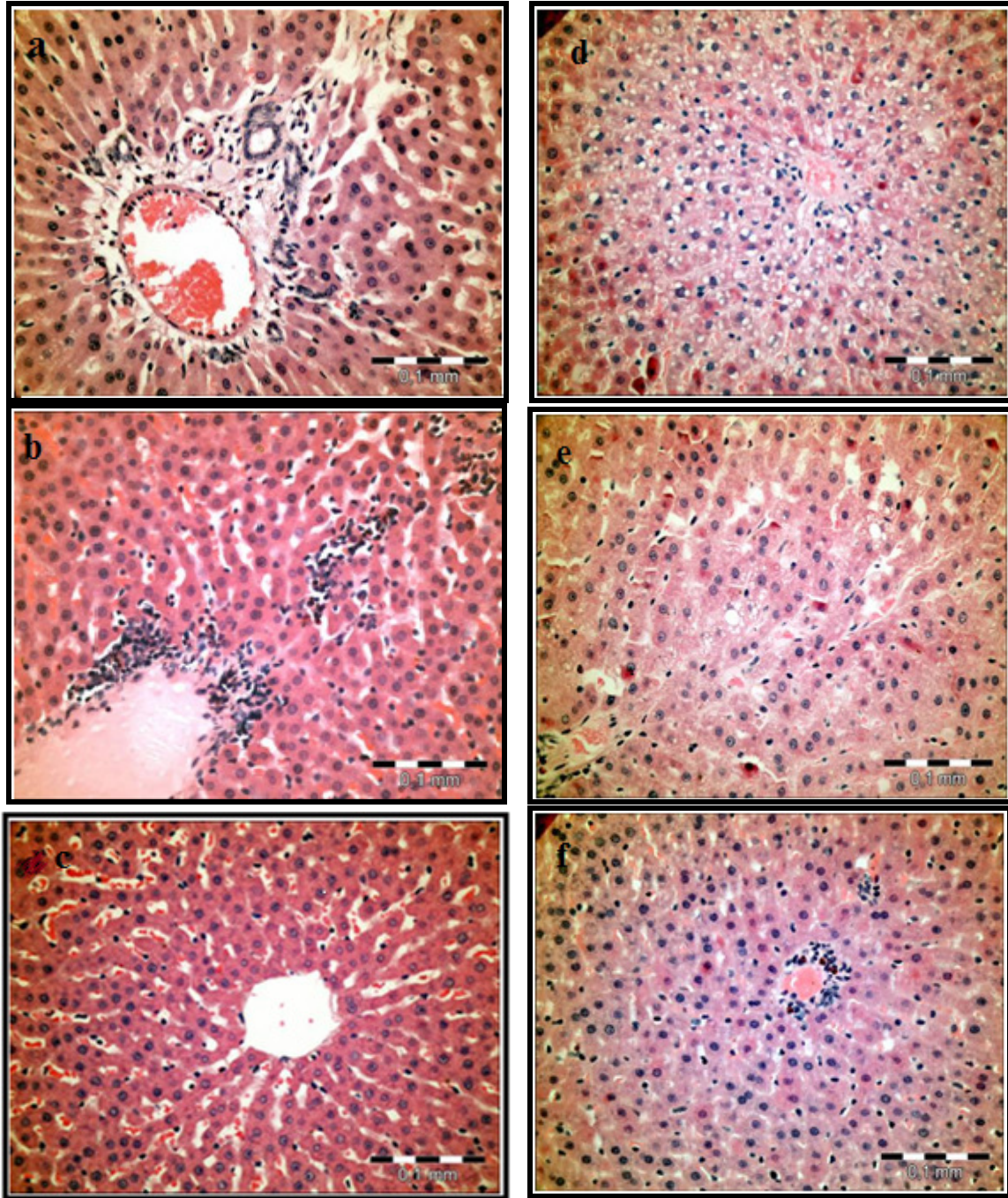


Aynı harfi paylaşmayan değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Şekil 13. Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamasının yüksek früktozlu diyet ile beslenen sıçanların karaciğer glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ekspresyonu üzerine etkisi (Ort. \pm SD).

Kontrol grubu (1); Karnozin grubu (2); Karnozin+E vitamini grubu (3); Yüksek früktozlu diyet (YFD) grubu (4); YFD+Karnozin grubu (5); YFD+Karnozin+E vitamini grubu (6)





Şekil 14. a) Kontrol, b) Karnozin ve c) Karnozin+E vitamini, c) Yüksek früktozlu diyet (YFD), d) YFD+karnozin ve e) ve f) YFD+karnozin+E vitamini gruplarındaki karaciğer histopatolojisi (H&E; x400)

5. TARTIŞMA

Son yıllarda MetS'un prevalansındaki artışlar bilim insanlarını bu konuda daha fazla araştırma yapmaya yöneltmiştir. Bu nedenle insanda görülen MetS'a benzerlik gösteren ve özellikle obezite, diyabet, karaciğer yağlanması ve hipertansiyon gibi majör bileşenlerin geliştiği deneysel modellere gereksinim duyulmuştur. Bu amaçla 3 farklı model kullanılmaktadır (81). Birinci modelde genetik olarak obez ve/veya diyabetik olan fare ve sıçanlar (*Zucker diabetic fatty rats*, *Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats*, *db/db mice*, *ob/ob mice*, vs.) kullanılmaktadır (45,81). İkinci modelde alloksan ve streptozotosin gibi kimyasal maddeler kullanılarak MetS oluşturulmak istenmiş, ancak bu modelde MetS'un bileşeni olan obezite ve hipertansiyon bulguları oluşturulamamıştır (81). MetS oluşturmak için en yaygın kullanılan yöntem ise deney hayvanlarını fruktozca zengin bir diyetle beslemektir (1,18,49,77,78,83,84,103,120,). Sınırlı sayıda çalışmada fruktoz içme suyunda da kullanılmaktadır (6,11), ancak deneysel MetS oluşturmak için fruktozun diyetle verilmesinin içme suyu ile verilmesinden daha uygun olduğu bildirilmektedir (22,120). Bazı çalışmada ise fruktoz kaynağı olarak sukroz kullanılmaktadır (19,20,25,85). Ayrıca yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içeren diyetler kullanılarak da kemiricilerde MetS oluşturulabilmektedir (82,86).

Deneysel MetS oluşturmada kullanılan fruktoz yeme karıştırılmaktadır. Yemdeki fruktoz oranı bazı çalışmada %30-35 oranında (18,83,84,120), ancak çalışmaların büyük çoğunluğunda %60-65 oranındadır (1,49,77,103). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde %60-65 oranında fruktoz içeren yemlerle beslenme süresinin değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bazı araştırmacılar incelemelerini 2-3 hafta (53,103,118), diğerleri 4-5 hafta (2,46,72,77,87) sonra yapmışlardır. Bununla birlikte, çalışmaların büyük çoğunluğunda YFD uygulaması 6-8 hafta sürdürülmüştür (1,22,24,49,50,93,120). Bazı araştırmacılar YFD uygulamasını daha da uzun tutmuştur (1,94). Ancak, YFD uygulamasından 6-8 hafta sonra deney hayvanlarında glikoz ve insülin düzeylerinin, HOMA değerlerinin ve TG düzeylerinin arttığı bulunmuştur (1,24,49,50,93,103). Bu tabloya serumda oksidatif stresin uyarıldığını destekleyen bulgular da eklenmiştir (24,50).

Çalışmamızda % 60 oranında fruktoz içeren ticari yemle 8 hafta süre ile beslediğimiz sıçanlarda hiperglisemi ve hipertrigliserideminin, karaciğerde ise histopatolojik olarak bir yağlanmanın geliştiği saptandı. Birinci amacımız fruktozlu yemle beslenen sıçanlarda gelişen karaciğer yağlanmasında prooksidan-antioksidan dengedeki değişikliklerin katkısını

belirlemektir. Bazı araştışıcılar % 60 oranında fruktozlu yemle beslenen sıçanlarda 2-5 haftalık dönemde karaciğerde MDA düzeylerini incelemişler ve bazıları MDA düzeylerinin arttığını (2,53,118), diğerleri ise değişmediğini (89) bulmuşlardır. % 60 oranında früktoz içeren diyetle beslenmenin karaciğerde prooksidan-antioksidan denge üzerine etkisini ayrıntılı inceleyen iki çalışma bulunmaktadır (50,93). Kannappan ve ark. (50) % 60 früktoz içeren diyetle 2 ay süre ile besledikleri sıçanlarda plazma glikoz ve insülin düzeyleri ve HOMA değerlerinin arttığını, karaciğerde MDA, LOOH, PK düzeylerinde bir artış, GSH, E vitamini ve C vitamini düzeyleri ile SOD, katalaz, GSH-Px, GSH-R ve GST aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Karaciğerde prooksidan-antioksidan dengedeki prooksidasyon yönündeki bu değişikleri kas dokusunda ve serumda da saptamışlardır. Bu araştışıcılar karaciğerde nitrozatif stresin de arttığını, apoptozun geliştiğini, serumda LDH aktivitesinde bir artış bulduklarını belirtmişlerdir (50). Reddy ve ark. (93), YFD uygulamasından 2 ay sonra serumda glikoz, insülin, ve trigliserit düzeylerinin arttığını, karaciğerde MDA ve PK düzeylerinde bir artış ve GSH, SOD, katalaz, GSH-R ve GST aktivitelerinde bir azalma bulduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda YFD uygulaması sıçanların serumunda glikoz, insülin ve trigliserit düzeyleri ile HOMA değerlerinde bir artışa yol açtı. Kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri ise etkilenmedi. YFD uygulaması serumda ALT, AST ve LDH aktivitelerinde de bir artış oluşturdu. Karaciğerde kolesterol düzeyleri değişmediği halde trigliserit düzeylerinin arttığı bulundu. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde de mikro ve makroveziküler bir yağlanma gözlendi. Bu koşullarda karaciğerde MDA düzeylerinin değişmediği, DK düzeylerinin ise arttığı, GSH düzeyleri ile SOD aktivitesi ve ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmadığı halde, GSH-Px aktivitesi ve ekspresyonunda bir azalma saptandı. Prooksidan-antioksidan denge ile ilgili olarak elde ettiğimiz bu bulgular, Kannappan ve ark. (50) ve Reddy ve ark. (93)'nın elde ettiği bulgulardan bazı farklılıklar göstermekle birlikte, karaciğerdeki yağlanmaya prooksidan-antioksidan dengede prooksidasyon yönünde bir değişikliğin eşlik ettiğini göstermektedir.

YFD uygulamasının karaciğer dışı dokulardaki etkileri ve buna oksidatif değişikliklerin katkısı konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Nandhini ve ark. (72) 1 ay süre ile YFD uygulanan sıçanlarda kalp ve böbreklerde MDA, DK, LOOH düzeylerinin arttığını, E vitamini, C vitamini, sülfidril gruplarının azaldığını bildirmişlerdir. Rault-Nania ve ark. (89) 1 ay süreli YFD uygulamasından sonra kalpte MDA düzeylerinin arttığını, böbrek tubuluslarının histopatolojik incelemesinde bazı bozukluklar gördüklerini belirtmişlerdir. Sanchez-Lozada ve ark. (120) 8 hafta süreli YFD uygulamasından sonra sıçanlarda hipertansiyon, hiperürisemi ve hipertrigliseridemiye böbreklerde mikrovasküler hasarın eşlik

ettiğini bildirmişlerdir. Delbosc ve ark. (24) YFD uygulamasından 1,2,3,4 ve 6 hafta sonra yaptıkları incelemede sıçanların kalp ve aortasında superoksit anyonu oluşumunun giderek arttığını, vasküler ve kardiyak bir hipertrofi ve hipertansiyon geliştiğini saptamışlardır. Kas dokusunda da prooksidan-antioksidan dengenin YFD uygulamasından etkilendiği bildirilmiştir (50,87).

Çalışmamızda MetS oluşturulan sıçanlarda kalp dokusunda da oksidatif stres göstergeleri incelendi . Bulgularımıza göre, MDA, DK ve GSH düzeyleri ile SOD ve GSH-Px aktivitelerinde hiçbir değişiklik bulunmadı. YFD grubundaki sıçanların kalp dokusunun histopatolojik incelemesinde de kontrol gruba göre bir farklılık bulunmadı. YFD grubundaki sıçanların AST, LDH enzimlerinin yanı sıra CK enzim aktivitesinde de bir artış görülmekle birlikte, AST ve LDH artışları karaciğerdeki patolojik değişikliklerden, CK artışı ise olası kas değişikliklerinden kaynaklanabilir.

Karnozin antioksidan bir dipeptid olup son yıllarda oksidatif stresle bağlantılı bazı patolojilerin düzeltilmesinde etkili bir ajan olabileceği ileri sürülmektedir. Bu çerçevede yaşlanma (8,38,119) Alzheimer hastalığı (41), ateroskleroz (88) ve karaciğer hasarı (7,9,27,65) gibi bazı patolojik durumların önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca diyabetik farelerde bozulmuş olan prooksidan-antioksidan dengeyi, hiperglisemi, hiperlipidemi ve inflamasyonu düzelttiği bulunmuştur (57). Mong ve ark (66) yüksek doymuş yağlı diyetle besledikleri farelerde karnozin uygulamasının insülin duyarlılığını düzelttiğini ve karaciğer yağlanmasını azalttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda bir grup sıçana YFD ile birlikte 8 hafta süreyle içme suyunda 2 g/L karnozin verilmiştir. Seçilen karnozin dozu bizim (8,9) ve diğer araştırmacıların (57,66) karnozinle ilgili yapmış oldukları çalışmalara dayanmaktadır. Karnozin E vitamini ile birlikte kullanıldığında, dokulardaki birikiminin daha yoğun olduğu ve antioksidan etkinliğinin arttığı bildirildiği için (44,64), diğer gruba YFD ile birlikte karnozinin yanı sıra haftada 2 kez olmak üzere 200 mg/kg 'a eşdeğer E vitamini i.m. olarak uygulanmıştır. Sonuçlarımıza göre, YFD ile beslenen sıçanlara birlikte karnozin uygulandığında; serum glikoz, insülin, kan HbA_{1c}, TG ve kolesterol düzeyleri ile HOMA değerlerinde bir düzelme olmamıştır. YFD ile birlikte karnozin +E vitamini uygulandığında ise; serum glikoz, HbA_{1c}, trigliserit ve kolesterol düzeyleri değişmediği halde insülin düzeyleri ile HOMA değerlerinde bir azalma bulunmuştur. Buna karşılık, karnozin ve karnozin+vitamin E uygulamaları YFD etkisi ile artmış olan serum ALT, AST, LDH ve CK aktivitelerinde bir azalmaya neden olmuştur. Karnozin karaciğerde YFD uygulaması ile bozulmuş olan prooksidan-antioksidan dengeyi düzeltmediği halde, karnozin+vitamin E uygulaması karaciğerde artmış DK düzeylerini

azaltmış, azalmış GSH-Px aktivitesini ve ekspresyonunu arttırmıştır. YFD grubunda gözlenen makro ve mikroveziküler yağlanmanın, karnozin uygulaması ile azaldığı, bu azalmanın karnozin+E ile daha da belirgin olduğu bulunmuştur. Gerçekten karnozin uygulaması YFD ile beslenen sıçanlarda karaciğer trigliserit düzeylerinde daha az, buna karşılık karnozin + E vitamini daha belirgin bir azalmaya neden olmuştur.

Öte yandan kalp dokusunda prooksidan-antioksidan dengenin ve histopatolojik görünümün gerek YFD ve gerekse karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamalarından etkilenmediği saptanmıştır.

Sonuç olarak,

- a) YFD uygulaması sıçanlarda hiperglisemi, hipertrigliseridemi ve karaciğer yağlanmasına neden olmuştur.
- b) Karnozin ve karnozin+E vitamini uygulamaları YFD'ye bağlı hiperglisemi ve trigliseridemi azaltıcı bir etki göstermemiştir.
- c) YFD'ye bağlı karaciğer yağlanmasını gerek karnozin , gerekse karnozin+E vitamini uygulamaları azaltmıştır. Bununla birlikte, karaciğer yağlanması ve oksidatif stres üzerine karnozin+vitamin E'nin birlikte kullanımının karnozine oranla daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Abdullah MM, Riediger NN, Chen Q, Zhao Z, Azordegan N, Xu Z, Fischer G, Othman RA, Pierce GN, Tappia PS, Zou J, Moghadasian MH. Effects of long-term consumption of a high-fructose diet on conventional cardiovascular risk factors in Sprague-Dawley rats. *Mol Cell Biochem* 2009; 327:247-256.
2. Ackerman Z, Herman MO, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela BA, Grozovski M. Effects of Amlodipine, captopril, and bezafibrate on oxidative milieu in rats with fatty liver. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 777-784.
3. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-553.
4. Aldini G, Facino RF, Beretta G, Carini M. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: From structural studies to therapeutic perspectives. *Biofactors* 2005; 24: 77-87.
5. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14 (Suppl 5): S1-S85.
6. Armutcu F, Coskun O, Gürel A, Kanter M, Can M, Ucar F, Unalacak M. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin Biochem* 2005; 38:540-7.
7. Artun BC, Küskü-Kiraz Z, Güllüoğlu M, Çevikbaş U, Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of carnosine pretreatment on oxidative stress and hepatotoxicity in binge ethanol administered rats. *Human Exp Toxicol* 2010; 29: 659-665.
8. Aydın AF, Küçükgergin C, Özdemirler-Erata G, N. Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of carnosine treatment on prooxidant-antioxidant balance in liver, heart and brain tissues of male aged rats. *Biogerontology* 2010; 11: 103-109.
9. Aydın AF, Küskü-Kiraz Z, Doğru-Abbasoğlu S, Güllüoğlu M, Uysal M, Koçak-Toker N. Effect of carnosine against thioacetamide-induced liver cirrhosis in rat. *Peptides* 2010; 31: 67-71.
10. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of İnsülin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999; 16: 442-443.

11. Barbosa CR, Albuquerque EM, Faria EC, Oliveira HC, Castilho LN. Opposite lipemic response of Wistar rats and C57BL/6 mice to dietary glucose or fructose supplementation. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40:323-331.
12. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab* 2005; 2: 1-14.
13. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.
14. Boldyrev AA. Protection of proteins from oxidative stress. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1057:1-13.
15. Buege JA, Aust JD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310.
16. Bunn HF, Higgins PJ. Reaction of monosaccharides with proteins: possible evolutionary significance. *Science* 1981; 213: 222-224.
17. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Demigne C, Mazur A, Rayssiguier Y. Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and prooxidative effect of a high fructose diet in rats. *J Nutr* 2003; 133: 1903-1908.
18. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Mazur A, Rayssiguier Y. Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effect of fructose. *J Nutr* 2002; 132: 3379-3382.
19. Busserolles J, Mazur A, Gueux E, Rock E, Rayssiguier Y. Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the pro-oxidant effect of a high sucrose diet. *Exp Biol Med* 2002; 227:837-842.
20. Busserolles J, Zimowska W, Rock E, Rayssiguier Y, Mazur A. Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. *Life Sci* 2002; 71: 1303-1312.
21. Butler J, Rodondi N, Zhu Y, Figaro K, Fazio S, Vaughan DE, Satterfield S, Newman AB, Goodpaster B, Bauer DC, Holvoet P, Harris TB, de Rekeneire N, Rubin S, Ding J, Kritchevsky SB. Metabolic syndrome and the risk of cardiovascular disease in older adults. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1595-1602.
22. De Moura RF, Ribeiro C, de Oliveira JA, Stevanato E, de Mello MA. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br J Nutr* 2009;101:1178-1184.

23. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijples G, Sterhouwer CDA, Bouter LM, Heine RJ. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation* 2005; 112: 666-673.
24. Delbosc S, Paizanis E, Magous R, Araiz C, Dimo T, Cristol JP, Cros G, Azay J. Involment of oxidative stres and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a model of insülin resirance, the fructose-fed rat. *Atherosclerosis* 2005; 179: 43-49.
25. Diniz YS, Rocha KK, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Novelli Filho JL, Cicogna AC, Novelli EL. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol* 2006 14; 543:151-157.
26. Drouard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter Glut5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: E227-E237.
27. El-Batch M, Ibrahim W, Said S. Effect of histidine on autotaxin activity in experimentally induced liver fibrosis. *J Biochem Mol Toxicol* 2011; 25: 143-150.
28. Feig DI, ASoletsky B, Johnson RJ. Effects of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension. *JAMA* 2008; 300: 924-932.
29. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest* 1997; 100: 1166-1173.
30. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) *Circulation* 2000; 102: 42-47.
31. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509.
32. Fontana M, Pinnen F, Lucente G, Pecci L. Prevention of peroxynitrite-dependent damage by carnosine and related sulphonamido pseudodipeptides. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59:546-551.
33. Fried SK, Rao SP. Sugars, hypertriglyceridemia and cardiovascular diease. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 873-880.
34. Gao XB, Qi L, Qiao N, Choi HK, Curhan G, Tucker KL, Ascherio A. Intake of added sugar and sugar-sweetened drink and serum uric acid concentration in U.S. men and women. *Hypertension* 2007; 50: 306-312.

35. Girard A, Madani S, Boukourt F, Malki-Cherkaoui M, Belleville J, Prost J, Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 2006; 22: 758-766.
36. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford, Oxford University Press, 1999.
37. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63:133-57.
38. Hipkiss AR. Would carnosine or a carnivorous diet help suppress aging and associated pathologies? *Ann NY Acad Sci* 2006; 1067: 369–374.
39. Hipkiss AR, Brownson C. Carnosine react with carbonyl groups: another possible role for the antiageing peptide? *Biogerontology* 2000; 1: 2217–2223
40. Hipkiss AR, Preston JE, Himsworth DT, Worthington VC, Keown M, Michaelis J, Lawrence J, Mateen A, Allende L, Eagles PA, Abbott NJ. Pluripotent protective effects of carnosine, a naturally occurring dipeptide. *Ann NY Acad Sci* 1998; 854: 37-53.
41. Hipkiss AR. Could carnosine or related structures suppress Alzheimer's disease? *J Alzheimer's Dis* 2007; 11: 229–240
42. Hipkiss AR. On the enigma of carnosine's anti-ageing actions. *Exp Gerontol* 2009; 44: 237-242
43. http://www.istanbul.edu.tr/itf/attachments/021_turdep.2.sonuclarinin.aciklamasi.pdf
44. Ibrahim W, Tatum V, Yeh CC, Hong CB, Chow CK. Effects of dietary carnosine and vitamin E on antioxidant and oxidative status of rats. *Int J Vitam Nutr Res* 2008; 78: 230-237.
45. Johnson FK, Johnson RA, Durante W, Jackson KE, Stevenson BK and Peyton KJ. Metabolic syndrome increases endogenous carbon monoxide production to promote hypertension and endothelial dysfunction in obese Zucker rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 2006; 290: 601-608.
46. Joyeux-Faure M, Rossini E, Ribout C, Faure P. Fructose-fed rat hearts are protected against ischemia-reperfusion injury. *Exp Biol Med* 2006; 231:456-462.
47. Jürgens H, Haass W, Castañeda TR, Schürmann A, Koebnick C, Dombrowski F, Otto B, Nawrocki AR, Scherer PE, Spranger J, Ristow M, Joost HG, Havel PJ, Tschöp MH. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res* 2005; 13:1146-1156.
48. Kahn BB. Alterations in glucose transporter expressions and function in diabetes: mechanisms for insulin resistance. *J Cell Biochem* 1992; 48: 122-128.

49. Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran MK, Anuradha CV. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Med J* 2006; 47: 858-863
50. Kannappan S, Palanisamy N, Anuradha CV. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose-administered rats. *Eur J Pharmacol* 2010; 645:177-184.
51. Karamouzis I, Pervanidou P, Berardelli R, Iliadis S, Papassotiriou I, Karamouzis M, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Enhanced oxidative stress and platelet activation combined with reduced antioxidant capacity in obese prepubertal and adolescent girls with full or partial metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 2011; 43: 607-613.
52. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follman DA, Sullivan G, Quon MJ. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402-2410.
53. Kim HY, Okubo T, Juneja LR, Yokozawa T. The protective role of amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) against fructose-induced metabolic syndrome in a rat model. *Br J Nutr* 2010; 103:502-512.
54. Knight JA. Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Ann Clin Lab Sci* 1995; 25: 111-121.
55. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4 *Nature* 1970; 227:680-685
56. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
57. Lee Y, Hsu C, Lin M, Yin M. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. *Eur J Pharmacol* 2005; 513: 145-150
58. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2964-2968.
59. Lim JS, Mietus-Synder M, Valente A, Schwartz J-M, Lustig RH. The reole of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 251-264.
60. Liu W, Liu T, Yin M. Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1503-1509

61. Ludwig DS, Gortmaker SL. Programming obesity in childhood. *Lancet*. 2004 ;364:226-227.
62. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assesment insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
63. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am. J Clin Nutr* 1993; 58: 754-765.
64. Maynard LM, Boissonneault GA, Chow KC, Bruckner GG. High levels of dietary carnosine are associated with increased concentrations of carnosine and histidine in rat soleus muscle. *J Nutr* 2001; 131: 287-290.
65. Mehmetçik G, Özdemirler G, Koçak-Toker N, Çevikbaş U, Uysal M. Role of carnosine in preventing in thioacetamide-induced liver injury in the rat. *Peptides* 2008; 29: 425-429.
66. Mong MC, Chao CY, Yin MC. Histidine and carnosine alleviated hepatic steatosis in mice consumed high saturated fat diet. *Eur J Pharmacol* 2011; 653: 82-88.
67. Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 512-520.
68. Nagai R Nagai R, Ikeda K, Higashi T, Sano H, Jinnouchi Y, Araki T, Horiuchi S. Hydroxyl radical mediates N epsilon-(carboxymethyl)lysine formation Amadori product. *Biochem Biophys Res Comm* 1997; 234: 167-172.
69. Nagasawa T, Yonekura T, Nishizawa N, Kitts DD. In vitro and in vivo inhibition of muscle lipid and protein oxidation by carnosine. *Mol Cell Biochem* 2001; 225: 29-34.
70. Nagata R, Nishio Y, Sekine O, Nagai Y, Maeno Y, Ugi S, Maegawa H, Kashiwagi A. Single nucleotide polymorphism (-468 Gly to A) at the promoter region of SREBP-1c associates with genetic defect of fructose-induced hepatic lipogenesis. *J Biol Chem*. 2004; 279:29031-29042.
71. Nakazawa H, Fukuyama N, Takizawa S, Tsuji C, Yoshitake M, Ishida H. Nitrotyrosine formation and its role in various pathological conditions. *Free Rad Res Commun* 2000; 33: 771-784.
72. Nandhini ATA, Thirunavukkarasu V, Ravichandran MK, Anuradha CV. Effect of taurine on biomarkers of oxidative stress in tissues of fructose-fed insulin-resistant rats. *Singapore Med J* 2005; 46: 82-87.

73. National Institute for Health. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-2497.
74. Nguyen S, Choi HK, Lustig RH, Hsu CY. Sugar sweetened beverages, serum uric acid and blood pressure in adolescents. *J Pediatr* 2009; 154:807-813.
75. Oda A, Bannai C, Yamoka T, Katori T, Matsushima T, Yamashita K. Inactivation of Cu-ZnSOD by in vitro glycosylation in erythrocytes of diabetic patients. *Horm Metab Res* 1994; 26: 1-4.
76. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-358.
77. Olatunji LA, Soladoye AO. Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats. *Pathophysiology* 2007; 14:11-15.
78. Oron-Herman M, Kamari Y, Grossman E, Yeager G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *Am J Hypertens* 2008; 21:1018-1022.
79. Pacher P, Schulz R, Liaudet L, Szabo C. Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 302-310.
80. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part I. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10:1-27.
81. Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 351982.
82. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam MA, Diwan V, Kauter K, Sernia C, Campbell F, Ward L, Gobe G, Fenning A, Brown L. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011; 57: 611-624.
83. Paško P, Bartoń H, Zagrodzki P, Gorinstein S. Effect of amaranth seeds (*Amaranthus cruentus*) in the diet on some biochemical parameters and essential trace elements in blood of high fructose-fed rats. *Nat Prod Res* 2011; 25: 844-849.
84. Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Izewska A, Krosniak M, Gawlik M, Gawlik M, Gorinstein S. Effect of diet supplemented with quinoa seeds on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2010; 65: 146-151.

85. Pérez-Torres I, Roque P, El Hafidi M, Diaz-Diaz E, Baños G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free Radic Res* 2009 ;43:761-771.
86. Poudyal H, Panchal S, Brown L. Comparison of purple carrot juice and β -carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2010; 104:1322-32.
87. Rajasekar P, Anuradha CV. Effect of L-Carnitine on skeletal muscle lipids on oxidative stress in rats fed high-fructose diet. *Exp Diabetes Res* 2007; 2007:72741.
88. Rashid I, Van Reyk DM, Davies MJ. Carnosine and its constituents inhibit glycation of low-density lipoproteins that promotes foam cell formation in vitro. *FEBS Lett* 2007; 581:1067–1070.
89. Rault-Nania MH, Demougeot C, Gueux E, Berthelot A, Dzimir S, Rayssiguier Y, Rock E, Mazur A. Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin Nutr* 2008; 27: 276-282.
90. Reaven GM, Litbell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities – the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *New Engl J Med* 1996; 334: 374-381
91. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
92. Reaven GM. Why Syndrome X? From Harold Himsworth to the insulin resistance syndrome. *Cell Metabolism* 2005; 1: 9-14.
93. Reddy SS, Ramatholisamma P, Karuna R, Saralakumari D. Preventive effect of *Tinospora cordifolia* against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47:2224-2229.
94. Reungjui S, Roncal CA, Mu W, Srinivas TR, Sirivongs D, Johnson RJ and Nakagawa T. Thiazide diuretic exacerbate fructose-induced metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2624-2731.
95. Reynisdottir S, Dauzats M, Thorne A, Langin D. Comparison of hormone-sensitive lipase activity in visceral subcutaneous human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4162-4166.
96. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow up of 14719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107: 391-397.

97. Roglans N, Vila L, Farre M, Allegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M, Laguna JC. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology* 2007; 45: 778-788.
98. Rutledge AC, Adele K. Fructose and the metabolic syndrome: Pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev* 2007; 65: 13-23.
99. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Jiménez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T, Soto V, Avila-Casado C, Nakagawa T, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Franco M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F423-F429.
100. 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, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. *Diabet Care* 2002; 25: 1551-1556.
101. Schalkwijk CG, Stehouwer CD, van Hinsbergh VW. Fructose-mediated nonenzymatic glycation: sweet coupling or bad modification. *Diabetes Metab Res* 2004; 20: 369-382.
102. Simão AN, Lozovoy MA, Simão TN, Venturini D, Barbosa DS, Dichi JB, Matsuo T, Cecchini R, Dichi I. Immunological and biochemical parameters of patients with metabolic syndrome and the participation of oxidative and nitrosative stres. *Braz J Med Biol Res* 2011; 44:707-712.
103. Singh I, Singh PK, Bhansali S, Shafiq N, Malhotra S, Pandhi P, Pal Singh A. Effects of three different doses of a fruit extract of Terminalia chebula on metabolic components of metabolic syndrome, in a rat model. *Phytother Res* 2010; 24:107-112
104. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, Meloun M, Rousar T, Palicka V. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46: 499–505.
105. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, Meloun M, Rousar T. Oxidative stress and metabolic syndrome in obese adults with and without controlled diet restriction. *Bratisl Lek Listy* 2009;110:152-157.
106. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 1985; 150: 76-85.
107. Soleimani M. Dietary fructose, salt absorbtion and hypertension in metabolic syndrome: towards a new paradigm. *Acta Physiol* 2011; 201: 55-62

108. Song D, Hutchings S, Pang CY. Chronic N-acetylcysteine prevents fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 5008: 205-210.
109. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Metabolik sendrom kılavuzu. BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım, Kızılay, Ankara, 2009.
110. Uysal M. Karbonhidrat metabolizması. *Biyokimya*, (Eds) Gürdöl F, Ademoğlu E. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2010; 219.
111. Uysal M. Serbest radikaller ve oksidatif stres. *Biyokimya*, (Eds) Gürdöl F, Ademoğlu E. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2010; 647-652.
112. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
113. Vos MB, Kimmons JE, Giles C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med* 2008; 10:160.
114. Weickert MO, Pfeiffer AF. Signalling mechanisms linking hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia* 2006; 49:1732-1741.
115. Wood IS, Wang B, Lorette-Cebrian S, Trayhorn P. Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (GLUT) and 2-deoxy-D-glucose uptake in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Comm* 2007; 361: 468-473.
116. World Health Organisation. Definition, diagnosis and classification of diabetes. Geneva: World Health Organisation, 1999.
117. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342-346.
118. Yokozawa T, Kim HJ, Cho EJ. Gravinol ameliorates high-fructose-induced metabolic syndrome through regulation of lipid metabolism and proinflammatory state in rats. *J Agric Food Chem* 2008;56:5026-5032.
119. Yuneva AO, Kramerenko GG, Vetreshchak TV, Gallant S, Boldyrev AA. Effect of carnosine on *Drosophila melanogaster* lifespan. *Bull Exp Biol Med* 2002; 133: 559–561.
120. Zagrodzki P, Joniec A, Gawlik M, Gawlik M, Krosniak M, Folta M, Barton H, Pasko P, Chlopicka J, Zachwieja Z. High fructose model of oxidative stress and metabolic disturbances in rats. Part I. Antioxidant status of rats' tissues. *Bull Vet Inst Pulawy* 2007; 51: 407-412.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MURAT	Soyadı	GİRİŞ
Doğ.Yeri	MALATYA	Doğ.Tar.	08.04.1976
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	16862846854
Email	mgirism@gmail.com	Tel	05375935953

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü	
Yük.Lis.	İ.Ü ,İTF BİYOKİMYA ANABİLİM DALI	2005
Lisans	YTÜ FEN-EDB KİMYA BÖLÜMÜ	2000
Lise	ERTUĞRUL GAZİ LİSESİ	1993

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1 ARAŞTIRMA . GÖREVLİSİ	İÜ,İstanbul Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı	5 (2005-2011)
2 Kimyager .	İÜ, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü	(2011-)
3 .		-

İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	74,125	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

LES Puanı	60	60	60
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	Çok iyi
SPSS	İyi

Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

1. **Giriş M**, Erbil Y, Depboylu B, Mete O, Türkoğlu U, Abbasoğlu SD, Uysal M. Heme Oxygenase-1 Prevents Hyperthyroidism Induced Hepatic Damage via an Antioxidant and Antiapoptotic Pathway. **J Surg Res** 2010; 164:266-75.
2. Yalçinkaya S, Unlüçerçi Y, **Giriş M**, Olgaç V, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. Oxidative and nitrosative stress and apoptosis in the liver of rats fed on high methionine diet: protective effect of taurine. **Nutrition** 2009; 25:436-44.
3. Ozseker F, Büyüköztürk S, Gelincik A, Depboylu B, Genç S, **Giriş M**, Eroğlu H, Erden S, Colakoğlu B, Dal M, Akkor A. Neurotrophins: are they meaningful in chronic spontaneous urticaria? **Asian Pac J Allergy Immunol** 2008; 26:83-8.
4. Erbil Y, **Giriş M**, Salmaslioglu A, Ozluk Y, Barbaros U, Yanik BT, Kapran Y, Abbasoglu SD, Ozarmagan S. The effect of anti-thyroid drug treatment duration on thyroid gland microvessel density and intraoperative blood loss in patients with Graves' disease. **Surgery** 2008; 143:216-25.
5. **Giriş M**, Depboylu B, Doğru-Abbasoğlu S, Erbil Y, Olgaç V, Aliş H, Aykaç-Toker G, Uysal M. Effect of taurine on oxidative stress and apoptosis-related protein expression in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. **Clin Exp Immunol** 2008; 152:102-10.
6. Uğraş B, **Giriş M**, Erbil Y, Gökpınar M, Citlak G, İşsever H, Bozbora A, Oztezcan S. Early prediction of anastomotic leakage after colorectal surgery by measuring peritoneal cytokines: prospective study. **Int J Surg** 2008; 6:28-35.
7. Erbil Y, **Giriş M**, Abbasoğlu SD, Barbaros U, Yanik BT, Necefli A, Olgaç V, Toker GA. Effect of heme oxygenase-1 induction by octreotide on TNBS-induced colitis. **J Gastroenterol Hepatol** 2007; 22:1852-8.

8. Erbil Y, Ozluk Y, **Giris M**, Salmaslioglu A, Issever H, Barbaros U, Kapran Y, Özarmagan S, Tezelman S. Effect of Lugol solution on thyroid gland blood flow and microvessel density in the patients with Graves' disease. **J Clin Endocrinol Metab** 2007 ;92:2182-9.
9. Erbil Y, Ozbey N, **Giris M**, Salmaslioglu A, Ozarmagan S, Tezelman S. Effects of thyroxine replacement therapy after thyroidectomy on lipid profile and endothelial function in patients with overt non-autoimmune hypothyroidism. **Br J Surg** 2007; 92:2182-9
10. **Giris M**, Erbil Y, Dogru-Abbasoglu S, Yanik BT, Alis H, Olgac V, Toker GA. The effect of heme oxygenase-1 induction by glutamine on TNBS-induced colitis : The effect of glutamine on TNBS colitis. **Int J Colorectal Dis** 2007; 22:591-9.
11. Akgul S, Erbil Y, **Giris M**, Alis H, Yanik BT, Olgac V, Toker GA. The effect of octreotide on pancreatic damage in TNBS-induced colitis. **Surg Innov** 2006; 13:102-8.
12. Deger C, Erbil Y, **Giris M**, Yanik BT, Tunca F, Olgac V, Abbasoglu SD, Oztezcan S, Toker G. The effect of glutamine on pancreatic damage in TNBS-induced colitis. **Dig Dis Sci** 2006; 51:1841-6.
13. Necefli A, Tulumoglu B, **Giris M**, Barbaros U, Gunduz M, Olgac V, Guloglu R, Toker G. The effect of melatonin on TNBS-induced colitis. **Dig Dis Sci** 2006; 51:1538-45.
14. **Giris M**, Erbil Y, Oztezcan S, Olgac V, Barbaros U, Deveci U, Kirgiz B, Uysal M, Toker GA. The effect of heme oxygenase-1 induction by glutamine on radiation-induced intestinal damage: the effect of heme oxygenase-1 on radiation enteritis. **Am J Surg** 2006; 191:503-9.
15. Olgac V, Erbil Y, Barbaros U, Oztezcan S, **Giris M**, Kaya H, Bilge H, Guler S, Toker G. The efficacy of octreotide in pancreatic and intestinal changes: radiation-induced enteritis in animals. **Dig Dis Sci** 2006; 51:227-32.
16. Abbasoglu SD, Erbil Y, Eren T, **Giris M**, Barbaros U, Yucel R, Olgac V, Uysal M, Toker G. The effect of heme oxygenase-1 induction by octreotide on radiation enteritis. **Peptides** 2006; 27:1570-6.

17. Erbil Y, Oztezcan S, **Giris M**, Barbaros U, Olgac V, Bilge H, Kucucuk H, Toker G. The effect of glutamine on radiation-induced organ damage. **Life Sci** 2005;78:376-82.

18. Kocak-Toker N, **Giris M**, Tulubas F, Uysal M, Aykac-Toker G. Peroxynitrite induced decrease in Na⁺, K⁺-ATPase activity is restored by taurine. **World J Gastroenterol** 2005;11:3554-7.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Kitap okumak, fotograf çekmek , sinema ve müzik.